

Mehanizam djelovanja odabranih antitumorskih lijekova

Križan, Helena

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

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:217:141987>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-13**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Helena Križan

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

MEHANIZAM DJELOVANJA ODABRANIH ANTITUMORSKIH LIJEKOVA

Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za biokemiju

Mentor rada: doc. dr. sc. Aleksandra Maršavelski

Zagreb, 2022.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

19. kolovoza 2022.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

23. rujna 2022.

Mentor rada: doc. dr. sc. Aleksandra Maršavelski

Potpis:

Sadržaj

§ SAŽETAK.....	VIII
§ 1. UVOD.....	1
1.1. Tumori.....	1
1.1.1. Abnormalni signalni putevi.....	2
1.1.2. Abnormalnosti u regulaciji staničnog ciklusa.....	3
1.1.3. Apoptoza i p53 protein.....	4
1.1.4. Telomere.....	5
1.1.5. Angiogeneza.....	5
1.1.6. Invazija tkiva i metastaza.....	6
1.1.7. Liječenje.....	7
1.1.8. Rezistencija.....	8
Antitumorski lijekovi.....	10
1.1.9. Lijekovi koji djeluju izravno na nukleinske kiseline.....	10
1.1.10. Antimetaboliti.....	11
1.1.11. Terapije temeljena na hormonima.....	12
1.1.12. Lijekovi koji djeluju na strukturne proteine.....	12
1.1.13. Inhibitori signalnih puteva.....	12
1.1.14. Inhibitori raznih enzima.....	14
1.1.15. Razni antitumorski agensi.....	15
1.1.16. Antitijela, konjugati antitijela i genska terapija.....	15
1.1.17. Fotodinamička terapija.....	18
§ 2. NAJPRODAVANIJ I ANTITUMORSKI LIJEKOV I 2022. GODINE.....	20
2.1. Revlimid (lenolidamid).....	20
2.1.1. Struktura i sinteza.....	20
2.1.2. Upotreba i mehanizam djelovanja.....	22
2.2. Opdivo (nivolumab).....	25
2.2.1. Upotreba.....	25
2.2.2. Struktura.....	26
2.2.3. Mehanizam.....	27
2.3. Imbruvica (ibrutinib).....	28
2.3.1. Struktura.....	28
2.3.2. Upotreba.....	28

2.3.3. <i>Mehanizam</i>	29
2.4. Keytruda (pembrolizumab)	31
2.4.1. <i>Struktura</i>	31
2.4.2. <i>Upotreba</i>	32
2.4.3. <i>Mehanizam</i>	32
2.5. Ibrance (palbociclib)	33
2.5.1. <i>Struktura</i>	33
2.5.2. <i>Upotreba</i>	33
2.5.3. <i>Mehanizam</i>	34
2.6. Tecentriq (atezolizumab).....	34
2.6.1. <i>Upotreba</i>	34
2.6.2. <i>Mehanizam</i>	35
2.6.3. <i>Struktura</i>	36
2.7. Darzalex (daratumumab)	39
2.7.1. <i>Upotreba</i>	39
2.7.2. <i>Struktura</i>	40
2.7.3. <i>Mehanizam</i>	41
2.8. Perjeta (pertuzumab).....	44
2.8.1. <i>Struktura</i>	44
2.8.2. <i>Upotreba</i>	45
2.8.3. <i>Mehanizam</i>	46
2.9. Xtandi (enzalutamide)	47
2.9.1. <i>Struktura i sinteza</i>	47
2.9.2. <i>Upotreba</i>	49
2.9.3. <i>Mehanizam</i>	49
2.10. Avastin (bevacizumab)	51
2.10.1. <i>Mehanizam</i>	51
2.10.2. <i>Upotreba</i>	52
2.10.3. <i>Struktura</i>	52
2.11. Herceptin (trastuzumab)	53
2.11.1. <i>Upotreba</i>	53
2.11.2. <i>Struktura</i>	54
2.11.3. <i>Mehanizam</i>	56
2.12. Gazyva (obinutuzumab)	60
2.12.1. <i>Upotreba</i>	60
2.12.2. <i>Struktura</i>	60

2.12.3. <i>Mehanizam</i>	61
2.13. Jakafi (ruxolitinib)	62
2.13.1. <i>Upotreba</i>	62
2.13.2. <i>Struktura</i>	63
2.13.3. <i>Mehanizam</i>	63
2.14. Venclexta (venetoclax)	64
2.14.1. <i>Struktura</i>	64
2.14.2. <i>Upotreba</i>	65
2.14.3. <i>Mehanizam</i>	66
2.15. Rituxan (rituximab)	66
2.15.1. <i>Upotreba</i>	66
2.15.2. <i>Struktura</i>	67
2.15.3. <i>Mehanizam</i>	69
§ 3. BUDUĆNOST LIJEČENJA TUMORA	LXX
§ 4. POPIS KRATICA	LXXIII
§ 5. LITERATURNI IZVORI	LXXIX

§ Sažetak

Tumori nastaju nekontroliranim rastom i diobom stanica koja je posljedica disregulacije kontrolnih mehanizama. Ako tumor ostane lokaliziran, riječ je o benignoj izraslini, no ako se stanica tumora odvoji od primarnog tumora, putovat će krvotokom te se pričvrstiti na drugo mjesto i započeti sekundarni tumor. U tom slučaju radi se o malignom tumoru koji je opasan jer metastazira i to najčešće na dobro prokrvljena mjesta čime remeti njihovo funkcioniranje, ali i ugrožava život. Stoga je potrebno poduzeti neki od koraka: operacija, radioterapija, kemoterapija ili čak kombinacija. Često se primjenjuju i kombinacije antitumorskih lijekova koji imaju različite mehanizme djelovanja ili djeluju na različite mete. Postoji nekoliko vrsta antitumorskih lijekova: lijekovi koji djeluju izravno na nukleinske kiseline, antimetaboliti, hormonske terapije, inhibitori signalnih puteva i enzima, antitijela, konjugati antitijela, genska terapija te fotodinamička terapija.¹

U ovom radu posebna pozornost posvećena je monoklonskim antitijelima, imunomodulatorima, inhibitorima kinaza, inhibitorima signalnih puteva i hormonskoj terapiji. Prikazana je njihova struktura (za neke i sinteza), mehanizam djelovanja te je navedeno za što se koriste. Potom su ukratko opisani nedavni napretci u pristupu liječenja raka i aspekti koji se još razvijaju.

§ 1. UVOD

Tumorske stanice nastaju iz normalnih stanica kada se poremete mehanizmi koji kontroliraju rast i diobu stanica. Zbog toga se tumor („lokalna oteklina“) još naziva neoplazmom, što znači novi rast (grč. neos -novo, plasma -rast, stvorenje), te rakom (Hipokratov naziv). Danas je to drugi najčešći uzrok smrti (nakon bolesti srca), te je tijekom 2000. godine zahvaćalo gotovo svaku treću osobu i uzrokovalo čak četvrtinu svih smrti u razvijenom svijetu.²

Iako se čini da su tumori izazovi modernog doba, ljudi se s njima bore oduvijek. Prvi slučaj (rak dojke) je zabilježen još u starom Egiptu 3000. godina prije Krista (Edwin Smith papirus) kada se smatralo da je to Božja kazna. Tada ih se liječilo kauterizacijom – spaljivanje zahvaćenog tkiva užarenom kovinom ili korištenjem kaustičnih sredstava. Srećom, kako su ljudi sve bolje razumijevali tumore, tako je i njihovo liječenje napredovalo.³ U ovom radu prikazat će se dosadašnja saznanja o tumorima ukratko, obraditi kako djeluje 15 najprodavanijih antitumorskih lijekova 2022. godine⁴ te pružiti uvid u tehnologije koje se razvijaju na tom području, a koje bi uvelike mogle poboljšati uspješnost liječenja ove komplicirane bolesti.

1.1. Tumori

Tumor čine stanice koje su izgubile svoju originalnu funkciju te se neprestano dijele. Kako bi došlo do toga treba se poklopiti više faktora kao što su: abnormalnosti u regulaciji staničnog ciklusa, neosjetljivost na signale inhibicije rasta, abnormalni signalni putevi, izbjegavanje apoptoze (programirana smrt stanice), neograničena dioba, sposobnost angiogeneze (razvoj novih krvnih žila) te invazija tkiva i metastaza.

Kad je sve to osigurano, stanica se može nesmetano dijeliti i tumor može lagodno preživljavati u svom domaćinu. Ukoliko sve tumorske stanice ostanu lokalizirane, radi se o benignom tumoru koji obično ne stvara prevelike probleme dok ne naraste do određene veličine (u nekim slučajevima čak do veličine nogometne lopte), ali ga je svakako potrebno redovito kontrolirati. No, odvoji li se ijedna stanica od primarnog tumora, putovat će krvnim žilama dok se ne učvrsti na drugom mjestu. Taj proces se naziva metastazom i dovodi do nastanka sekundarnih tumora koji se tada smatraju malignima. Maligni tumori su puno opasniji jer se najčešće pojavljuju u dobro prokrvljenim dijelovima poput pluća, jetre, kostiju, mozga ili potrbušnice.

Do nastanka tumora može doći zbog nekoliko razloga. Zahvaljujući duljoj izloženosti mutagenima moguće je da se oko 30% slučajeva raka pojavljuje zbog pušenja te 30% zbog prehrane. Također može se raditi o mutagenim kemikalijama ili drugim tvarima koje nas okružuju, a djeluju kancerogeno. Na primjer djelovanjem mutagena na proto-onkogene dolazi do mutacije čime se remeti normalna kontrola diobe stanice i diferencijacije (tada se nazivaju onkogeni). Djelovanjem mutagena može doći i do oštećenja DNA za čiju provjeru, popravak i samouništenje su odgovorni geni za supresiju tumora (anti-onkogeni), što povećava vjerojatnost da neka od stanica postane stanica raka. Ponekad virusi mogu dovesti do razvoja raka. Do sada je poznato da su uključeni u čak 6 vrsta raka kod ljudi te da čine 15% smrti od raka diljem svijeta. Virusni onkogeni mogu unijeti onkogene u stanicu, određene promotore ili pojačivače čije je smještanje pored onkogenih ključno. Osim toga kod nekih oboljelih kemoterapija i radioterapija mogu dovesti do novog raka, no benefiti su značajniji od vjerojatnosti pojave novog raka.

Još jedan problem je nestabilnost samih stanica raka. S obzirom da su sklone mutacijama, često tumor nije građen od istovrsnih stanica raka, već ga sačinjava nekoliko različitih tipova stanica (heterogenost). Kako bi stvar bila još kompliciranija, stanice raka u središtu mogu prijeći u stanje mirovanja (staju s diobom jer nemaju dovoljno nutrijenata), što može dovesti do poteškoće tijekom liječenja jer se većina lijekova fokusira na stanice koje se učestalo dijele. Stoga se obično primjenjuje kombinacija terapija: radioterapija (zračenje), kemoterapija i operacija kada je moguća.² Dakako, za što bolju učinkovitost razvijene su mnoge vrste kemoterapije, što će biti opisano u sklopu sljedećeg podnaslova.

1.1.1. Abnormalni signalni putevi

Sve što stanica čini, čini prema signalima koje dobiva iz okoline od susjednih stanica. Faktori rasta su hormoni koji djeluju kao izvanstanični kemijski glasnici koji aktiviraju receptore protein kinaze u staničnoj membrani. Oni šalju jedan od najvažnijih signala koji prenosi uputu za transkripciju gena nužnih za rast i diobu stanice. Kod većine rakova je opažen neki defekt u ovom putu koji im omogućuje stalni rast i diobu.

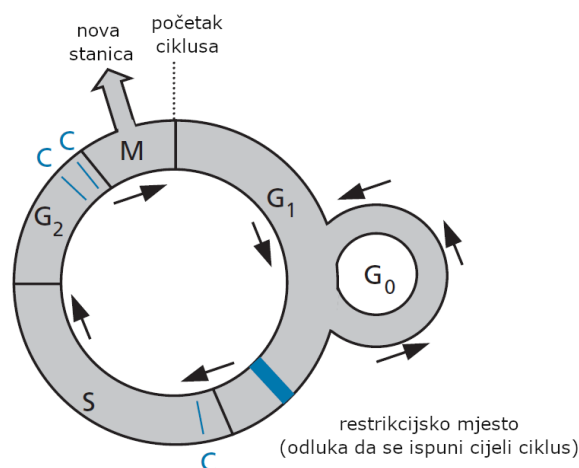
Neki pak rakovi mogu neprestano rasti i dijeliti se čak i kad nema vanjskih faktora rasta, tako što ih sami proizvode, otpuštaju i stimuliraju vlastite receptore (npr. PDGF- faktor rasta koji potječe od trombocita i TGF- α - transformirajući faktor rasta α). Također može doći i do oštećenja anti-onkogenih koji kodiraju za receptore hormona koji inhibiraju rast i diobu, poput transformirajućeg faktora rasta β (TGF- β) koji neutralizira efekte stimulirajućih faktora rasta.

To dovodi do neosjetljivosti na signale koji signaliziraju zaustavljanje rasta i diobe te povećava vjerojatnost da stanica postane stanica raka.

Druge pak stanice raka mogu proizvesti abnormalne receptore kojima faktor rasta nije potreban da bi se aktivirali, već su cijelo vrijeme aktivni (npr. Erb-B2 receptori kod raka dojki) ili imati previše eksprimirane receptore, što dovodi do povećane osjetljivosti na niske koncentracije faktora rasta. Vidljivo je da postoji nekoliko načina kako si tumori mogu osigurati neprestan rast i diobu.²

1.1.2. Abnormalnosti u regulaciji staničnog ciklusa

Stanični ciklus sastoji se od nekoliko faza: G₁ - stanica raste i priprema se za replikaciju DNA, S – sintetizira se nova DNA prema lancu kalupu, G₂ – provjera sintetizirane DNA, eventualni popravak, priprema za diobu i M – dioba stanice pri čemu nastaju stanice kćeri koje imaju jednak broj kromosoma kao početna stanica. Ili u određenim uvjetima stanica može ući u G₀ fazu - stanje mirovanja (slika 1).



Slika 1. Stanični ciklus sastoji se od nekoliko faza: G₁ – stanica raste i sintetizira nove proteine, S – sinteza DNA, G₂ – priprema za diobu, M-dioba stanice, G₀ – stanje mirovanja, C – kontrolne točke. Slika je preuzeta iz ² te obrađena.

Tijekom ciklusa postoje brojne kontrolne točke u kojima se odlučuje treba li stanica prijeći u iduću fazu. Ključni sudionici tog odlučivanja su ciklini i kinaze ovisne o ciklinima (CDKs). Postoji barem 15 vrsta ciklina i 9 vrsta CDK-ova te svaki ima drugačiju ulogu u različitim

fazama staničnog ciklusa. Ciklini se aktiviraju vezanjem odgovarajuće kinaze pri čemu nastaju ciklin-CDK kompleksi te pomažu stanici da prijeđe iz jedne faze u drugu, a taj proces može biti utišan pomoću CDK inhibitora. Ovisno o njihovoj ravnoteži stanica prelazi u sljedeću fazu ili ostaje u trenutnoj, a cijeli proces je strogo reguliran te se ciklin-CDK kompleksi brzo razgrađuju kad obave svoj posao.

Onkogenske promjene pRB puta uočene su kod 90% tumora kod ljudi, posebice u G1 fazi. pRB je protein ključan za prelazak stanice iz G1 u S fazu. Ukoliko je ravnoteža signala pomaknuta prema rastu i razvoju stanice, poveća se količina ciklina D koji se potom veže na CDK4 i CDK6. Kompleksi ciklin D-CDK4 i ciklin D-CDK6 fosforiliraju pRB (inhibira rast stanice) što onemogućuje vezanje pRB-a na specifične regije DNA te dovodi do transkripcije gena odgovornih za prelazak u S fazu (ciklin E i timidin kinaza).

p21 inhibira djelovanje nekih ciklina, a kontrolira ga p53 – protein koji nadzire cjelovitost DNA i zdravlje stanice.²

1.1.3. Apoptoza i p53 protein

Apoptoza je proces uništenja neispravnih stanica ili stanica koje su se izmjestile iz svog normalnog tkivnog okruženja, koji ima intrinzičnu i ekstrinzičnu rutu. Intrinzično djeluje kada dođe do oštećenja DNA koje se ne može popraviti, bilo da je nastupilo zbog izloženosti kemikalijama, lijekovima ili oksidativnom stresu. Tada se povećano sintetizira tumor supresor protein p53 koji pri određenoj koncentraciji pokreće apoptozu (povećana ekspresija Bax-a). Apoptoza ekstrinzično nastupa pod utjecajima vanjskih faktora, što se može manifestirati u tri oblika. Prvo, apoptoza može nastupiti zbog neprekidnog nedostatka faktora rasta ili hormona. Drugo, vezanje proteina aktivatora smrti na membranske proteine zvane receptori tumorskog čimbenika nekroze (TNF-R) inicira apoptozu. Treće, imunski sustav proizvodi stanice koje se zovu T-limfociti te su zadužene za pronalazak i uništenje oštećenih stanica. Kad pronađu oštećenu stanicu, probiju njenu staničnu membranu i ubace granzim (enzim koji pokreće apoptozu).

Osim navedenih proteina, važan je i citokrom c, čije otpuštanje iz mitohondrija pokreće sklapanje apoptosoma građenog od proteina Apaf-1. Apoptosom aktivira prokaspazu 9 koja potom aktivira kaspaze. Kaspaze su proteazni enzimi koje sadrže Cys u aktivnom mjestu što je bitno za katalitički mehanizam razgradnje staničnih proteina te su strogo regulirana obitelji proteina. Enzimi poput Bad i Bax kataliziraju djelovanje kaspaza, a Bcl-2 i Bcl-X inhibiraju aktivaciju kaspaza.

Bilo da se radi o defektu nekog od kompleksnih sustava koji vode do apoptoze, mutacija gena za p53, prevelika ekspresija gena za supresore apoptoze ili HDM2 - proteina koji se veže na p53 i sprječava ga da djeluje kao transkripcijski faktor; jasno je da pogreške u apoptozi mogu imati opasne posljedice, oštećena stanica može postati tumor, a radioterapija i kemoterapija mogu postati neučinkovite.²

1.1.4. Telomere

Telomere su strukture na 3' kraju kromosoma koje se sastoje od nekoliko tisuća ponavljajućih sekvenci (6 pb). Kad telomera postane prekratka, DNA postaje nestabilna, može se početi rasplitati ili povezati s krajem druge DNA što dovodi do apoptoze.

Svaka stanica ima svoj „vijek trajanja“ koji je ograničen brojem dioba, obično 50-60 dioba. No, stanice raka se opisuju kao besmrtno jer se mogu dijeliti beskonačno. U početku su i stanice raka „smrtne“, a s vremenom počnu eksprimirati telomeraze (ključne tijekom razvoja embrija) iz obitelji RNA-ovisnih DNA polimeraza. One mogu dodavati heksanukleotidne sljedove na kraj telomere kako bi zadržala svoju duljinu. Njihova ekspresija je opažena u preko 85% rakova.²

1.1.5. Angiogeneza

Angiogeneza je nastajanje novih krvnih žila koje uključuje migraciju, rast i diferencijaciju endotelnih stanica koje prekrivaju unutarnji sloj krvnih žila. Ključna je za opstanak svih stanica, tako i tumorskih, budući da se krvlju prenosi kisik, aminokiseline, baze nukleinskih kiselina, ugljikohidrati i faktori rasta koji su potrebni za dijeljenje stanica te za popravak oštećenih tkiva. Kako bi došlo do angiogeneze, metaloproteinaze iz matriksa (MMPs) trebaju probušiti bazalnu membranu kako bi endotelne stanice mogle putovati prema tumoru. Otapanje matriksa (engl. dissolution of the matrix) također dopušta da faktori angiogeneze budu otpušteni te potaknu angiogenezu.

Žile koje nastaju tumorskom angiogenezom nemaju organiziranu strukturu, proširene su i propuštajuće. To povećava šansu za metastaziranje jer je veća dostupnost krvnih žila i nove endotelne stanice mogu otpuštati proteine koji potiču metastazu (npr. interleukin-6). Također, takve žile na svojoj površini imaju molekule koje normalno nisu prisutne na zrelim žilama (npr. integrin), a štite ih od apoptoze. No, svojstva takvih žila omogućuju da se antitumorski lijekovi dostave baš do stanica tumora jer su obično zatvoreni u liposomima, nanosferama ili nekom sličnom dostavnom sustavu koji je prevelik da pobjegne iz normalnih krvnih žila. Nedostatak

funkcionalnog limfnog sustava kod tumora omogućuje da se antitumorski lijekovi zadrže u tumoru.

Kako tumor raste, stanice u središtu postaju udaljene od krvotoka, što uzrokuje hipoksiju te se nakupljaju inducibilni faktori hipoksije (poput HIF-1) koji pozitivno reguliraju gene koji potiču preživljavanje u okruženju gdje je količina kisika oskudna. Takve stanice primorane su dobivati energiju iz glikolize, što dovodi do nakupljanja kiselih nusprodukata u stanici. Stanice to rješavaju izvozom protona što se očituje kiselijom okolinom tumora.

Ako tumor nije dovoljno opskrbljen krvlju, može prijeći u stanje mirovanja, što predstavlja problem s obzirom da većina antitumorskih lijekova najbolje djeluje na stanice koje se aktivno dijele. Na taj način bi se eliminirale samo neke stanice, a nakon prestanka terapije stanice iz stanja mirovanja bi se aktivirale, tumor bi nastavio rasti, a uočeno je da su takve stanice sklonije metastazi.²

1.1.6. Invazija tkiva i metastaza

Tumori se mogu podijeliti na benigne i maligne. Benigni su lokalizirane izrasline koje mogu proći bez fatalnog ishoda. Maligni tumori se mogu odvojiti od primarnog, putovati krvotokom ili limfotokom te napraviti sekundarne tumore drugdje u tijelu, ali samo ako nadvladaju brojne kontrole koje služe da stanice ostanu na svom mjestu.

Svaka stanica ima molekularni potpis na svojoj površini koji je odgovoran da stanica bude na pravom mjestu. Stanične adhezijske molekule (CAMs; npr. E-kadherin) osiguravaju da se stanice čvrsto drže za stanice sličnog karaktera i za netopljivu mrežu proteina među njima – izvanstanični matriks. Ovo je osobito važno za epitelne stanice – stanice koje tvore vanjski sloj kože i oblažu crijeva, pluća i druge organe. Važan doprinos učvršćivanju imaju i transmembranski receptori – integrini. Ako se stanica odvoji, prestane rasti i nastupa apoptoza. Na taj način se sprječava da stanice iz jednog dijela tijela završe u drugom dijelu tijela, štoviše normalne stanice mogu preživjeti jedino ako njihove adhezijske molekule odgovaraju relevantnom izvanstaničnom matriksu.

Kod metastaziranih stanica raka nema adhezijskih molekula te se mogu odvojiti bez straha od apoptoze i vezati u drugim dijelovima tijela da osnuju sekundarne tumore. Smatra se da onkogeni u ovim stanicama kodiraju za proteine koji šalju lažne signale u jezgru zavaravajući ju da je stanica i dalje pričvršćena.

Uočeno je da većina rakova potječe od epitelnih stanica. One rastu na bazalnoj membrani - tankom sloju izvanstaničnog matriksa koji se ponaša kao fizička barijera za kretanje stanica.

Propušta samo bijele krvne stanice i stanice tumora jer sadrže metaloproteinaze u matriksu koje hidroliziraju proteinske barijere. Leukocitima je to potrebno kako bi mogli doći do mjesta infekcije, a tumoru kako bi se proširio. Nakon što probije bazalnu membranu, tumorska stanica se probija kroz sličnu membranu koja okružuje krvne žile da bi ušla u krvotok, zatim se učvrsti na krvnu žilu i izađe iz nje obrnutim procesom da dođe do novog tkiva. Procjenjuje se da manje od 1 na 10 000 takvih stanica uspije napraviti sekundarni tumor. Obično stanica raka zapne u prvoj mreži kapilara na koju naiđe. Za stanice primarnog tumora većine tkiva, sekundarni tumor će najvjerojatnije biti u plućima, a za tumore iz crijeva, u jetri.²

1.1.7. Liječenje

Kako bi liječenje bilo što uspješnije potrebno je tumor otkriti u što ranijem stadiju. Kad već jednom dođe do njegovog razvoja potrebno je primijeniti neki ili nekoliko pristupa njegovom liječenju. Ti pristupi obično uključuju operaciju, radioterapiju i kemoterapiju. Često se koristi više od jednog antitumorskog lijeka, ali onda se odabiru tako da djeluju različitim mehanizmima ili djeluju na različite molekule. Na taj način postiže se veća učinkovitost, niža toksičnost i manja vjerojatnost za razvoj rezistencije na lijek.

S obzirom da većina antitumorskih lijekova djeluje na molekule koje su prisutne i u zdravim stanicama, posebno je važno da koncentracija lijeka bude viša u stanicama tumora kako bi se osigurala učinkovitost i selektivnost. Najčešće je to moguće zahvaljujući brzom dijeljenju stanica raka koje pritom gomilaju hranjive tvari, građevne jedinice, ali i lijekove. Problem nastaje kod stanica raka u središtu, koje su i stanju mirovanja. Na njih antitumorski lijek neće imati učinka. Osim toga postoje i zdrave stanice za koje je brza dioba ključna, poput stanica koštane srži, te se u njima akumuliraju antitumorski lijekovi što ima za posljedicu slabljenje imunskog sustava. Javljaju se i neke druge nuspojave, od kojih su najčešće: gubitak kose, smanjeni rast kod djece, sporije zacjeljivanje rana, teratogenost, sterilnost, mučnina, oštećenja epitela probavnog trakta i bubrega. Većina tradicionalnih antitumorskih lijekova je citotoksična – ometa funkciju DNA, bilo da izravno djeluju na nju ili pak neizravno, inhibirajući enzime koji su uključeni u sintezu DNA.

Danas se želi dobiti selektivnije lijekove koji ciljaju određene molekularne mete koje su abnormalne ili previše eksprimirane u stanicama raka. S tim u vidu razvijani su inhibitori kinaza, antitijela i genska terapija, alkilirajući lijekovi itd. Uvelike pomaže sve bolje razumijevanje i poznavanje mehanizama kojima tumori nastaju i razvijaju se, pa se sukladno

tome unaprjeđuju lijekovi koji se primjenjuju. Svakako rano otkivanje raka može spasiti život, ali većina tumora nema očite simptome dok ne uznapreduju. Stoga se ide prema personaliziranoj medicini gdje bi se uzimanjem „genetičkih otisaka prstiju“ otkrilo kojim pojedincima prijeti veća vjerojatnost razvoja određenog raka, redovitim pregledima mogli bi se otkriti stvarni ili potencijalni tumori prije pojave simptoma, identificirati tumori te formulirati najbolje liječenje za tog pojedinca. Više o navedenim pristupima nalazi se u poglavlju *Budućnost liječenja tumora*.

Za više od pola novih pacijenata oboljelih od raka odgovoran je jedan od četiri raka: rak pluća, dojke, debelog crijeva i prostate. U današnje vrijeme javnost se sve više osvještava o mogućim smanjenjima rizika za razvoj raka: opasnosti pušenja, neumjerenog pijenja, opasna otapala, te se promovira zdrava prehrana i način života. Opažena su zaštitna svojstva u hrani bogatoj vlaknima, voću i povrću. Npr. ditioltioni (engl. dithiolthiones) je skupina tvari u brokuli, cvjetači i kupusu koja ima zaštitna svojstva, od kojih je jedno aktivacija enzima u jetri koji detoksificiraju karcinogene. Opaženo je da azijske populacije imaju nisku stopu rakova dojke, prostate i debelog crijeva jer proizvodi od soje i zeleni čaj sadrže tvari koje štite od raka.²

1.1.8. Rezistencija

Još jedan od problema liječenja tumora je rezistencija na lijek. Ona može biti intrinzična ili stečena. Intrinzična se manifestira kao slab odgovor na antitumorski lijek otpočetak. Može biti zbog slabe apsorpcije lijeka, sporog rasta ili biokemijskih/genetičkih svojstava stanice. Stanice tumora u centru mogu biti u stanju mirovanja te zbog toga intrinzično rezistentne. Predloženo je i da možda postoje matične stanice koje su same po sebi rezistentne na antitumorske lijekove, što bi moglo objasniti ponovno pojavljivanje određenih rakova nakon uspješnog početnog tretmana. Ako tumor u početku reagira na lijek, a s vremenom postane rezistentan, radi se o stečenoj rezistenciji. Obično do nje dolazi zbog postojanja kombinacije stanica koje reagiraju na lijek i stanica koje su rezistentne. Tada se eliminiraju stanice koje reagiraju, pa opstaju samo rezistentne stanice. Dovoljna je samo jedna rezistentna stanica da se razvije novi tumor.

Budući da su stanice tumora genetički nestabilne, lako dolazi do mutacija, pa tako lijek može biti neučinkovit jer se slabije apsorbira ili se ciljna molekula sintetizira u većim količinama, neki lijekovi se trebaju aktivirati, a stanica se pobrine da se to ne dogodi, stanica može pronaći druge metaboličke putove (da zaobiđe antimetabolite), može efluksom izbacivati lijek zbog povećane ekspresije P-glikoproteina – ABC transporter koji normalno izbacuje brojne molekule iz stanice, uključujući toksine.

Očito stanica raka ima razne načine kako izbjeći djelovanje lijeka, stoga je smisleno koristiti kombinacije lijekova s različitim ciljnim molekulama kako bi se vjerojatnije pronašla slabost u svakoj stanici, a ne samo onima koje su osjetljive na pojedini lijek.²

Antitumorski lijekovi

1.1.9. Lijekovi koji djeluju izravno na nukleinske kiseline

Interkalirajući lijekovi sadrže planarni (hetero)aromatski prsten koji se može umetnuti između parova baza dvostruke zavojnice DNA. Mogu djelovati tako da poremete strukturu DNA i time inhibiraju enzime koji sudjeluju u replikaciji i transkripciji. Mogu stabilizirati kompleks DNA-topoizomeraza II, čime sprječavaju uvođenje po dva negativna zavoja, to jest onemogućuju odmotavanje lanaca DNA kako bi se provela replikacija. Mogu tvoriti kelate koji dovode do nastanka reaktivnih kisikovih vrsta koje uzrokuju jednolančane lomove DNA ili pak inhibirati helikazu koja razdvaja lance DNA. Razvijeni su brojni lijekovi ove skupine.

Podofilotoksin stabilizira kovalentni međuprodukt DNA i topoizomeraze II i stvaranjem slobodnih radikala cijepa lance DNA. Pokazuje selektivnost za stanice raka zahvaljujući povišenoj razini enzima ili enzimskoj aktivnosti u stanicama raka. Razvijaju se slični lijekovi kako bi se poboljšala topljivost u vodi, aktivnost protiv stanica raka rezistentnih na lijek te smanjila sklonost metaboličkoj inaktivaciji.

Kamptotekin je citotoksični alkaloid koji djeluje na kompleks DNA i topoizomeraze I. Uzrokuje cijepanje DNA ako je prisutan tijekom replikacije DNA. Selektivan je za stanice raka koje imaju višu količinu topoizomeraze I nego normalne stanice. Slabo je topljiv u vodi i ima brojne nuspojave, ali je i toksičan za stanice raka koje ne sintetiziraju novu DNA, zbog alternativnog mehanizma djelovanja – potiče djelovanje destruktivnih enzima poput endonukleaza i serinskih proteaza.

Alkilirajući lijekovi su jako elektrofilne tvari koje tvore kovalentne veze s nukleofilnim skupinama DNA ili proteina, ne ističući se selektivnošću. Ometaju replikaciju i transkripciju zbog unakrsnog povezivanja DNA te ju oštećuju zbog mutagenosti. Stanice raka se brže dijele, stoga je učinak na njih značajniji nego na zdrave stanice. Također su i kancerogeni.

Iperiti su prvotno korišteni u Prvom svjetskom ratu, a kasnije su dušični iperiti pronašli svoju primjenu kao alkilirajuća sredstva u liječenju raka. Djeluju tako da atom dušika zamijeni klor pri čemu nastaje aziridinijev ion (jaki elektrofil). Zatim može doći do alkilacija te unakrsnog povezivanja unutar lanca ili među lancima, što dovodi do inhibicije replikacije. Također koristi se još jedna taktika – nukleinska kiselina se pričvrsti na alkilirajuću skupinu, a budući da se stanice raka brže dijele, više nukleinskih kiselina ulazi u stanicu.

Cisplatin je jedan od najčešće korištenih antitumorskih lijekova. Spada u skupinu metalirajućih agenasa. Struktura se aktivira u stanici i unakrsno povezuje dijelove unutar istog

lanca DNA, ali su prisutne brojne nuspojave i česta je rezistencija na lijek. Kako bi se to izbjeglo, radi se na njegovoj selektivnosti – da se aktivira samo u tumorskim stanicama ili da se veže na molekulu koja je usmjerena na neki od važnih proteina koji su previše eksprimirani u stanicama raka.

CC 1065 je prirodan antitumorski lijek visoke citotoksičnosti. Veže se u mali utor DNA te alkilira adenin. Njegovi analozi se razmatraju za korištenje kao konjugati antitijelo-lijek.

Lijekovi, poput Calicheamicina γ^1 , vežu se na DNA, uzrokuju nastajanje radikalskih vrsta koje dovode do cijepanja DNA lanaca.

Antisensna terapija funkcionira tako da se oligonukleotid koji ima fosforotioatnu okosnicu veže na inicijacijski kodon mRNA koja nosi uputu za sintezu Bcl-2. Bcl-2 je protein koji inhibira djelovanje kaspaza, a time sprječava apoptozu. Na ovaj način se povećava vjerojatnost da će doći do apoptoze kad se pacijent podvrgne kemoterapiji ili radioterapiji. Fosforotioatni oligonukleotidi se dalje proučavaju kako bi mogli djelovati i na Raf i PKC γ , proteine koji su važni u prijenosu signala.²

1.1.10. Antimetaboliti

Antimetaboliti su inhibitori enzima koji sudjeluju u sintezi DNA ili njenih građevnih jedinica, što dovodi do procesa koji uzrokuju apoptozu. Često djeluju tako da inhibiraju: dihidrofilat reduktazu (antifolati), timidilat sintazu, ribonukleotid reduktazu, adenozin deaminazu, DNA polimerazu, poli-ADP riboza polimerazu (popravlja jednolančane lomove DNA) te kao purinski antagonisti.

Dihidrofolat reduktaza je enzim koji omogućuje regeneraciju kofaktora dihidrofolata u tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat zatim uz pomoć serin hidroksimetil-transferaze prelazi u N⁵,N¹⁰-metilen-THF, koji sudjeluje u biosintezi timidilata. Ukoliko se snizi količina potrebnog N⁵,N¹⁰-metilen-THF, to neizravno utječe na timidilat sintazu. 5-fluorouracil („suicidalni inhibitor“) izravno djeluje na nju tako što se veže na isti dio aktivnog mjesta kao uracil, a razvijeni su i inhibitori koji se vežu na mjesto vezanja kofaktora. Ako bi se sinteza dTMP zaustavila, usporila bi se sinteza DNA i dioba stanica.

Ribonukleotid reduktaza je enzim koji katalizira pretvorbu ribonukleotid difosfata u deoksiribonukleotid difosfat. Može biti neizravno inhibirana povećanjem količine prirodnih alosteričkih inhibitora poput dATP-a. Adenozin deaminaza je zaslužna za deaminaciju adenozina do inozina, što znači da njena inhibicija dovodi do nakupljanja dATP-a i inhibicije ribonukleotid reduktaze.

DNA polimeraza je enzim koji katalizira sintezu DNA iz četiri deoksiribonukleotid trifosfata. Lijekovi koji se primjenjuju kao inhibitori DNA polimeraze ponašaju se kao njeni supstrati (kompetitivna inhibicija) te se ugrađuju u rastući lanac DNA, čime sprječavaju replikaciju DNA ili dovode do loma lanca. Slično se mogu primijeniti lijekovi koji inhibiraju RNA-polimerazu, koji svojom ugradnjom u RNA sprječavaju transkripciju.

Purinski antagonisti su tvari koje inhibiraju sintezu purina na nekoliko mjesta, a mogu se i ugraditi u RNA i DNA, što dovodi do smrti stanice.²

1.1.11. Terapije temeljena na hormonima

Kod rakova koji ovise o hormonima, mogu se primijeniti hormoni, koji imaju suprotan učinak od onog koji je potreban raku, ili antagonisti hormona, koji će spriječiti vezanje potrebnog hormona na odgovarajući receptor. Vezanjem steroidnih hormona na unutarstanične receptore nastaju kompleksi koji imaju ulogu nuklearnih transkripcijskih faktora, to jest određuju hoće li se transkripcija odvijati. Lijekovi koji djeluju na ovaj način pripadaju: glukokortikoidima, estrogenima, progestinima, androgenima, hormonu koji otpušta luteinizirajući hormon te antagonistima receptora za estrogene i androgene i inhibitorima sinteze hormona (posebno se ističe aromataza kao ciljani enzim jer katalizira zadnji korak sinteze estrogena).²

1.1.12. Lijekovi koji djeluju na strukturne proteine

Tubulin je strukturni protein ključan za diobu stanice. Njegovom polimerizacijom nastaju mikrotubuli u citoplazmi. Kada je vrijeme za diobu mikrotubuli se depolimeriziraju, a polimerizacijom tubulina nastaje diobeno vreteno. Diobeno vreteno povlači odvojene kromosome na suprotne polove stanice. Mogu se koristiti antitumorski lijekovi koji vežu na tubulin da inhibiraju polimerizaciju ili na mikrotubule da inhibiraju depolimerizaciju. Neki se vežu na tubulin i kataliziraju polimerizaciju stabilizirajući mikrotubule. Istražuju se novi analozi koji bi imali bolju oralnu raspoloživost, poboljšana farmakološka svojstva i aktivnost protiv rakova koji pokazuju rezistenciju na lijek.²

1.1.13. Inhibitori signalnih puteva

Kod tumora često postoje defekti u signalnim putevima koji se mogu iskoristiti za liječenje. Obično je liječenje usmjereno na receptore za hormone rasta i razne signalne proteine te kinaze u putu prijenosa signala.

Kod čak 30% ljudskih tumora dolazi do mutacije Ras gena u Ras onkogen te je prisutan abnormalni oblik Ras proteina. Ras je uključen u signalni put koji kontrolira rast i diobu stanice, stoga nepravilnim funkcioniranjem može doprinijeti razvoju raka. Ras je mali G-protein koji veže GTP u aktivnom stanju, a može ga sam hidrolizirati do GDP-a i inaktivirati se. Kod mutiranog Ras proteina stalno se veže GTP, ali se ne može hidrolizirati te Ras ostaje stalno aktivan. Jedno od mogućih rješenja je korištenje farnezil transferaze (FT) koja veže farnezilnu skupinu na Ras i na taj način ga zadržava na unutarnjoj površini stanične membrane. Farnezil difosfat (FPP) prvi sjeda u aktivno mjesto, a potom Ras. Cistein iz Rasa potiskuje pirofosfat iz FPP-a. Nakon farnezilacije terminalni tripeptid Rasa se cijepa i nastala karboksilna skupina se metilira kako ne bi ometala vezanje farnezilnog lanca na staničnu membranu. Stoga su razvijeni inhibitori koji oponašaju prirodu terminalnog tetrapeptida Ras proteina. Ova regija, koja je česta u različitim tipovima Ras proteina poznata je kao CaaX peptid (C=Cys, a=Val, Ile ili Leu i X=Met, Glu ili Ser). Neki lijekovi osim FT-aze, inhibiraju i geranilgeranil-transferazu (GGTaza) koja katalizira prijenos prenilne skupine s geranil-geranil difosfata. GGTaza prenilira proteine koji imaju CaaX motiv, gdje je X=Leu, ali moguće je da prenilira i proteine koje obično prenilira FT ako je FT inhibirana. To bi omogućilo proteinima vezanje na staničnu membranu i funkcionalnost unatoč inhibiciji FT. Stoga se istražuju tvari koje bi mogle inhibirati oba enzima, ali i inhibirati signalizaciju Rasa jer interagiraju s njim ili drugim sudionicima signalnog puta.

Protein kinaze fosforiliraju specifičnu aminokiselinu u proteinskom supstratu te se smatra da ih ima više od 500 različitih vrsta. Neke od njih su enzimi u citoplazmi, a neke prelaze staničnu membranu i imaju ulogu i receptora i enzima. Receptori protein kinaza imaju izvanstanično mjesto za vezanje vanjskog glasnika, a njegovim vezanjem aktivira se unutarstanično kinazno mjesto. Kemijski glasnici uključuju razne hormone rasta i faktore rasta koji pokreću signalnu kaskadu koja obuhvaća različite protein kinaze u citoplazmi. Ovim putem se upravlja transkripcijom određenih gena koji upravljaju rastom i diobom stanice. Kod tumora je česta pojava povećan broj određenih hormona rasta ili faktora rasta ili određene protein kinaze ili receptora protein kinaze. Protein kinaze mogu se podijeliti na: tirozin kinaze, serin-treonin kinaze i histidin kinaze. S obzirom da sve kinaze koriste ATP kao fosforilirajući agens, postoje zasebne regije koje vežu ATP i supstrat. Inhibitori kinaza se vežu u aktivno mjesto i sprječavaju vezanje kofaktora i supstrata. Dijele se na tip I (veže se na aktivnu konformaciju enzima) i tip II (veže se na inaktivnu konformaciju enzima), no neki inhibitori se ponašaju kao

tip I za jednu kinazu i kao tip II za drugu kinazu. Srećom, selektivnost se može postići zahvaljujući varijacijama aminokiselina u aktivnom mjestu te dizajniranjem interakcija s regijama koje nisu okupirane ATP-om (npr. hidrofobnim džepom I).²

1.1.14. Inhibitori raznih enzima

Matriksne metaloproteinaze (MMPs) su cink-ovisni katalitički enzimi koji sudjeluju u normalnom obrtaju i remodeliranju izvanstaničnog matriksa ili vezivnih tkiva. Dijele se u četiri skupine: kolagenaze, gelatinaze, stromelizini i membranski tip (MT). Inhibitori ovih enzima mogu zaustaviti remodeliranje izvanstaničnog matriksa i time otežati bijeg stanicama raka i metastazu. Isto tako blokiraju otpuštanje VEGF-a iz skladišta u izvanstaničnom matriksu što dovodi do inhibicije angiogeneze. Inhibitori prve generacije razvijeni su na prirodnim proteinskim supstratima kolagenaza (slaba topljivost u vodi, osjetljivost na peptidaze), a sada se razvija i druga generacija inhibitora metaloproteinaza koje nisu nalik peptidu, a djeluju selektivnije.

Proteasom je proteinski kompleks koji cijepa peptidne veze krivo smotanih, oštećenih ili u tom trenutku nepotrebnih proteina. Kako bi se razgradili samo oni proteini koje je potrebno razgraditi koristi se posebna molekulska oznaka. Ubikvitin je protein koji se na ciljane proteine veže izopeptidnom vezom na bočni ogranak lizina. Iako se na prvu možda čini mudro pojačati aktivnost proteasoma, odabran je drugačiji smjer. Blokiranjem djelovanja proteasoma dolazi do nakupljanja regulatornih proteina (uključujući Bax), što dovodi do stanične krize i apoptoze.

Namatanjem DNA oko proteina (većinom histoni) nastaje kromatin kojeg čine ponavljajuće jedinice nukleosoma (oktet histona povezan s oko 200 pb DNA). Histoni su pozitivno nabijeni proteini (privlače negativno nabijenu fosfatnu okosnicu DNA) koji pomažu pakiranje DNA. Histon acetilaza je enzim koji acetilira bočne ogranke lizinskih repova histona. To smanjuje pozitivan naboj histona te interakcije histona i DNA, što olakšava pristup transkripcijskih faktora zbog manje kompaktne strukture. Histon deacetilaza uklanja acetilnu skupinu, što pak dovodi do povećanja pozitivnog naboja histona te jačih interakcija s DNA, što onemogućava pristup transkripcijskih faktora promotorskim regijama. To može dovesti do smanjene/nikakve ekspresije pojedinih gena, ali i otežati popravak DNA. Nekolicina inhibitora histon deacetilaze je bila razmatrana kao antitumorski lijek.

Osim navedenih proučavali su se i inhibitori telomeraza, inhibitori regulatornih enzima (npr. tirozin hidrosilaze), inhibitori angiogeneze i aktivatori kaspaza.

1.1.15. Razni antitumorski agensi

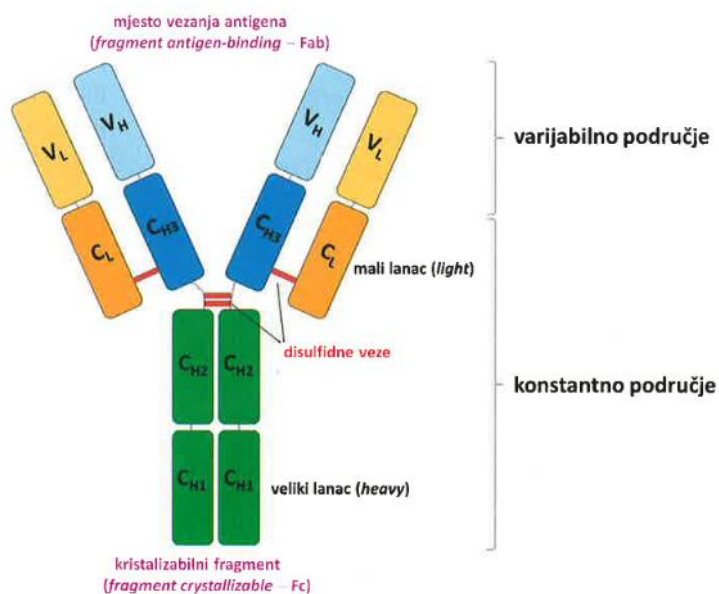
Poznati su i neki sintetski (npr. talidomid) i neki prirodni spojevi (npr. pancrastatin) s antitumorskim djelovanjem, a razvija se i proteinska terapija te lijekovi koji utječu na interakcije transkripcijskih faktora i koaktivatora.

Proteinskom terapijom se može inhibirati angiogeneza, na primjer angiostatin i endostatin su prirodno prisutni u tijelu i inhibiraju nastanak novih krvnih žila, a α - Interferon inhibira otpuštanje faktora rasta poput VEGF-a. Također stanice raka su osjetljivije na protein "ligand koji izaziva apoptozu povezan s tumorskim faktorom nekroze" (TRAIL), koji stimulira apoptozu. S obzirom da neke stanice raka nemaju normalne sintetske putove ili proizvode inaktivne enzime, to se može iskoristiti za liječenje. Npr. neke stanice leukemije ne mogu sintetizirati asparagin te ga moraju dobivati iz krvotoka, ali asparaginaza u krvotoku može katalizirati razgradnju Asn te spriječiti da stigne do stanica raka.

Lijekovi koji interagiraju s transkripcijskim faktorima, direktno utječu i na transkripciju gena. Ometanjem interakcija između transkripcijskih faktora i koaktivatora inhibiraju nastanak kompleksa koji je potreban za signalizaciju početka transkripcije. Istražuju se i lijekovi koji su potencijalni ligandi za bromodomeni. Ona može vezati acetilirane bočne ogranke lizina te je važna za protein-protein interakcije.²

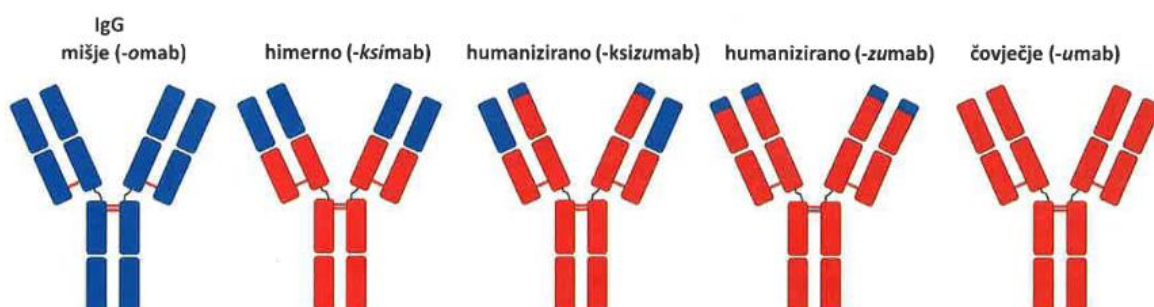
1.1.16. Antitijela, konjugati antitijela i genska terapija

Monoklonska antitijela su proteini koji se vežu na antigene koji su previše eksprimirani u određenim stanicama raka. Njihov struktura prikazana je na slici 2.



Slika 2. Shematski prikaz strukture antitijela: teški lanci (C_H) i laki lanci (C_L), varijabilna (V) i konstantna (C) područja antitijela. Prikazano je i mjesto vezanja antigena (Fab) te kristalizabilni fragment (Fc).¹

Aktiviraju imunski odgovor tijela da stanice ubojice napadnu tumor. Također se mogu vezati na receptor koji je previše eksprimiran i time blokiraju vezanje kemijskog glasnika. U tom slučaju monoklonsko antitijelo se ponaša kao antagonist receptora. U novije doba, pokušava se razviti monoklonska tijela koja bi se vezala na dva antigena, jedan na ciljanoj stanici tumora i drugi na normalnoj T-stanici. Postoji nekoliko vrsta protutijela (Slika 3).



Slika 3. Shematski prikaz himernih i humaniziranih monoklonskih antitijela. Humanizirani dijelovi antitijela prikazani su crvenom, a nehumanizirani plavom bojom.¹

Neka monoklonska antitijela djeluju antitumorski i bez lijeka, ali im je aktivnost preniska te se često koristi njihov spoj – konjugat antitijelo-lijek. Antitumorski lijek (ili radioizotop) veže se na antitijelo te se lijek selektivno prenosi do stanice raka. Kako bi liječenje bilo uz što manje nuspojava potrebno je zadovoljiti neke uvjete: antitijelo treba biti humanizirano kako bi se izbjegao imunosni odgovor, pokazuje selektivnost za antigen kojeg ima više u stanicama raka nego u normalnim stanicama, u stanicu ulazi endocitozom posredovanim receptorom te veza antitijela i lijeka treba biti stabilna dok konjugat ne uđe u stanicu, potom se veza cijepa, lijek otpušta i aktivira.

Terapija prekursorom enzima usmjerenog na antitijelo (ADEPT) funkcioniše tako da se enzim usmjeri na tumor jer je povezan s antitijelom koje se veže na antigen na tumoru. Kad enzim izađe iz krvotoka, daje se netoksični prekursor lijeka kojeg enzim aktivira u tumoru. Na taj način izbjegava se toksičan učinak na normalne stanice, a omogućuje da se lijek može primjenjivati u višim dozama nego aktivni metabolit. Prednost ADEPT-a nad konjugatima antitijelo-lijek je to što je enzim katalitički i može generirati velik broj aktivnih molekula lijeka na mjestu tumora. Oni tada mogu difundirati u tumor i utjecati na stanice koje možda nemaju pričvršćeno antitijelo na njih. Jedna od mana ADEPT-a je vjerojatnost da dođe do imunosnog odgovora na kompleks antitijelo-enzim s obzirom da se radi o stranom enzimu. Iz tog razloga bolje je koristiti ljudske enzime s prekursorima koji su već odobreni za antitumorsku upotrebu, imajući na umu da je tada veća šansa da se prekursor aktivira tijekom cirkulacije krvotokom. Dodatan problem može biti nedovoljna enzimaska aktivnost te vremenska rupa između primjene kompleksa antitijelo-enzim i prekursora lijeka. Treba proći dovoljno vremena da se razina nevezanog kompleksa dovoljno spusti, kako se prekursor ne bi aktivirao u krvotoku, ali ne previše kako bi količina kompleksa u tumoru ostala dovoljno visoka.

Abzimi su antitijela koja imaju katalitičko svojstvo te se mogu dizajnirati prekursori koji se ponašaju kao antigeni za ova antitijela, a aktiviraju se katalitičkim djelovanjem abzima (ADAPT- terapija prekursorom abzima usmjerenog na antitijelo). Ovo je relativno nov pristup, ali postoje neke prednosti u odnosu na ADEPT, kao što je mogućnost dizajniranja katalitičkih mehanizama koji se prirodno ne odvijaju, ali osiguravaju visoku selektivnost aktivacije prekursora lijeka u tumorima. Isto tako, u ovom slučaju nema rizika od imunosnog odgovora na strane enzime. No, za sada katalitička aktivnost je preniska te je potrebno još dosta istraživanja.

Terapija prekursorom enzima usmjerenog na gen (GDEPT) funkcionira tako da se u stanicu raka dostavi željeni gen koji kodira za enzim sposoban aktivirati prekursor. Najveći problem ove metode je dostava gena selektivno do stanica raka jer željeni enzim ne bi trebao biti prisutan u normalnim stanicama, kako bi se aktivacija prekursora odvijala samo u stanicama raka. To se pokušalo riješiti na nekoliko načina: gen se može ugraditi u virus (gen se splicea u virusnu DNA, a zatim ju virus unosi u stanicu domaćina; genetski modificiran da bude nevirulentan i ne šteti zdravim stanicama) ili prenositi neviralnim vektorima (nedovoljna selektivnost, potrebno unijeti izravno u stanicu tumora). Još jedan problem je što vjerojatno neće sve stanice primiti gen potreban za aktivaciju prekursora. Stoga je bitno da se lijek nekako prenese između stanica tumora – tzv . efekt promatrača. Aktivirani lijek može se otpuštati iz stanice, može se izravno prenositi kroz međustanične kanale (engl. gap junctions) ili otpuštati vezikule koje sadrže lijek, u svakom od slučajeva uslijedit će smrt stanice. Prednost GDEPT-a nad ADEPT-om je to što strani enzimi mogu nastati u stanicama raka i sakriti se od imunskog odgovora.

Genska terapija bi se još mogla koristiti i za unos gena koji kodiraju za regulatorne proteine koji su potisnuti u stanicama raka. Jedan takav primjer je uvođenje gena za p53 pomoću virusnog vektora.²

1.1.17. Fotodinamička terapija

Uobičajeno je da se prekursori metaboliziraju u tijelu i tako prelaze u aktivnu formu, no moguć je još jedan način. „Spavajući“ agensi su inaktivne tvari koje se aktiviraju uz pomoć vanjskog utjecaja. Konkretno, u ovom poglavlju riječ je o fotosenzibilizirajućim agensima poput porfirina ili klorina koji se aktiviraju pod crvenim svjetlom ili laserom. Takvo liječenje naziva se fotodinamičkom terapijom (PDT).

Porfirini se nalaze u hemoglobinu u crvenim krvnim stanicama i klorofilu kod biljaka, gdje kompleksiraju centralni kation (Fe^{2+} , Mg^{2+}). Ako se stanice raka koje su primile porfirine ozračuje, porfirini prelaze u pobuđeno stanje i reagiraju s molekulskim kisikom, pri čemu nastaje singletni kisik koji je veoma toksičan i može reagirati s proteinima i nezasićenim lipidima u staničnoj membrani te nastaju hidroksilni radikali. Oni pak reagiraju s DNA te zbog oštećenja koja uzrokuju dovode do uništenja stanice.

Postoje i mane ove metode. Porfirini su hidrofobni pa ih je teško napraviti, ali to se rješava unošenjem u liposome, ulja i polimerne micelle. Na taj način velike molekule lakše stižu do tumora jer su žile oko njih propuštajuće te takve molekule lakše prolaze nego kroz žile nastale normalnom angiogenezi, a i tumori radije „gutaju“ i zadržavaju makromolekule nego što to

čini normalno tkivo. Problem PDT-a je osjetljivost na svjetlost. Kad se lijek aktivira, može cirkulirati tijelom i akumulirati se u koži i očima, što uzrokuje fototoksične nuspojave.

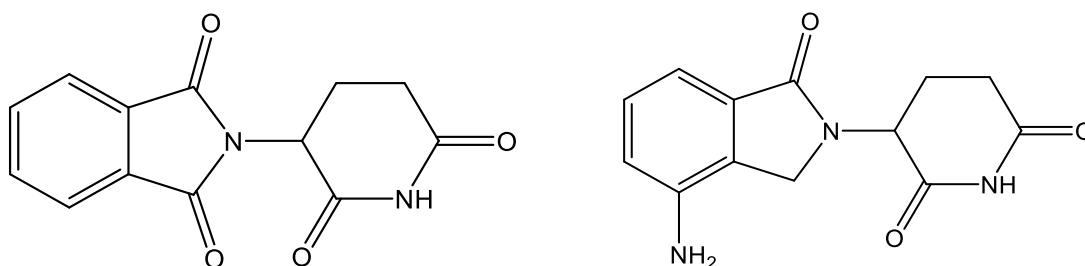
Opažanje da bi porfirini mogli uništiti stanice dovelo je do ideje da bi se mogli koristiti u liječenju raka, ali problemi poput fotosenzitivnosti su ograničili primjenu. Provode se daljnja istraživanja o poboljšanjima dostave agensa.²

§ 2. NAJPRODAVANJI ANTITUMORSKI LIJEKOVI 2022. GODINE

2.1. Revlimid (lenolidamid)

2.1.1. Struktura i sinteza

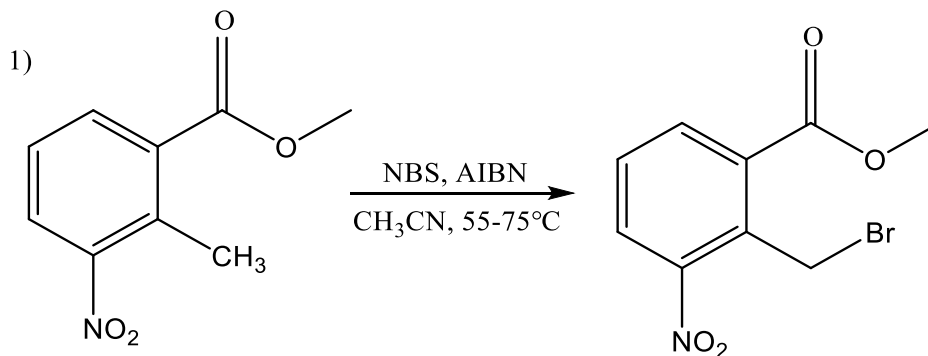
Revlimid se prema IUPAC-u zove 3-(4-amino-1-oksoizindolin-2-il)piperidin-2,6-dion (slika 4), a može pronaći i pod imenom Lenalidomid.⁵ Razvijen je kao analog talidomida (slika 4), ali veće potentnosti i s manje nuspojave. Talidomid je poznat po katastrofi koja se odvijala pedesetih godina prošloga stoljeća. Koristio se kao sedativ i antiemetik čija se upotreba najviše osjetila kod trudnica. Opažena je veća stopa djece s deformiranim udovima, izobličnim licem i slično. To je dovelo do zabrane korištenja talidomida u tu svrhu, ali se vidio njegov potencijal kao antineoplastik. Unatoč djelotvornosti nuspojave su bile izražene te se krenulo u daljnji razvoj sličnih spojeva. Kako bi se izbjegla teratogenost talidomida (ftalimid povezan preko N s 3' pozicijom glutarimida) na aromatski prsten revlimida uvedena je amino skupina. Također je opažena manja pospanost, zatvor i neuropatija u usporedbi s talidomidom.⁶



Slika 4. Struktura talidomida (lijevo) i revlimida (desno) nacrtana programom ChemDraw.

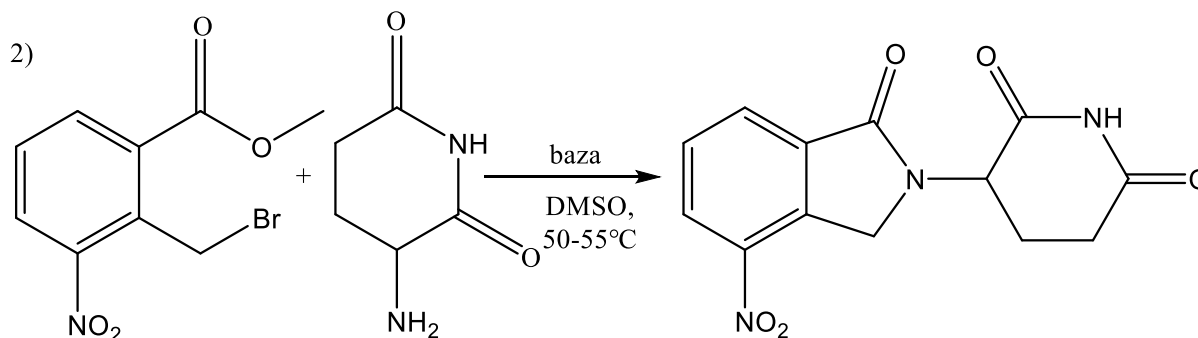
Revlimid se industrijski sintetizira na sljedeći način:

- 1) Metil 2-metil-3-nitrobenzoat se bromira s NBS-om ili 1,3-dibrom-5,5-dimetilhidantoin uz AIBN u acetonitrilu pri 55-75°C, zatim se izolira metil 2-(brommetil)-3-nitrobenzoat (slika 5).



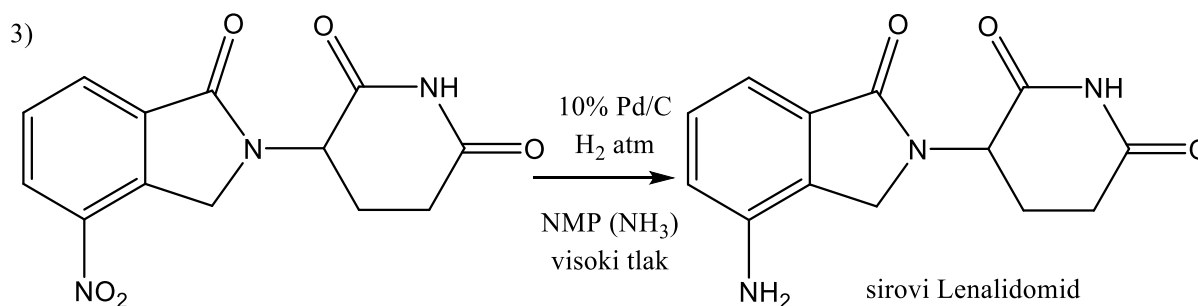
Slika 5. Prvi korak sinteze revlimida nacrtan programom ChemDraw.

- 2) Metil 2-(brommetil)-3-nitrobenzoat se kondenzira s 3-aminopiperidin-2,6-dion hidrokloridom u DMSO-u s bazom pri 50-55°C kako bi se dobio 3-(4-nitro-1-oksoizindolin-2-il)piperidin-2,6-dion (slika 6).



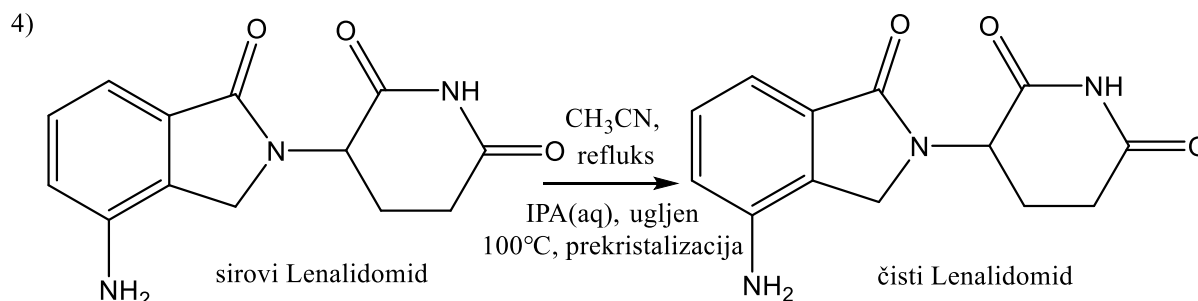
Slika 6. Drugi korak sinteze revlimida nacrtan programom ChemDraw.

- 3) 3-(4-nitro-1-oksoizindolin-2-il)piperidin-2,6-dion se hidrogenira 6-12 sati uz 10% Pd/C u atmosferi vodika pri 4,1-6,9 bara s amonijačnom otopinom NMP-a kako bi se dobio sirovi 3-(4-amino-1-oksoizindolin-2-il)piperidin-2,6-dion (slika 7).



Slika 7. Drugi korak sinteze revlimida nacrtan programom ChemDraw.

- 4) Sirovi produkt se otopi u acetonu i zagrijava uz povratno hladilo, nakon čega se prekrizalizira u smjesi vode i IPA-e (1:2) uz ugljen na temperaturi oko 100°C iz čega se dobije racemična smjesa čistog 3-(4-amino-1-oksoizindolin-2-il)piperidin-2,6-diona (slika 8).⁷

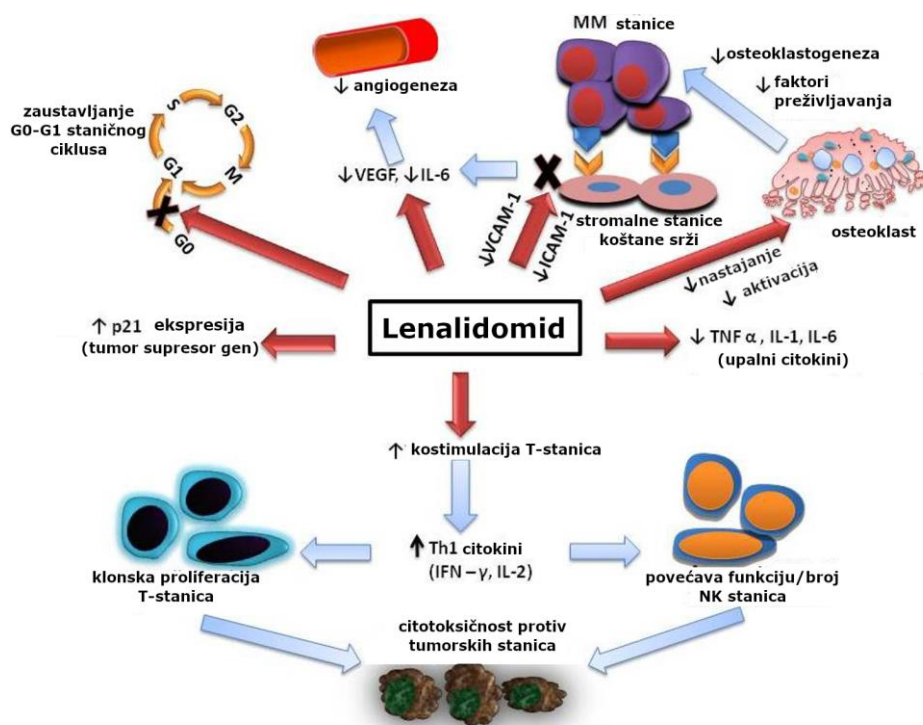


Slika 8. Četvrti korak sinteze revlimida nacrtan programom ChemDraw.

2.1.2. Upotreba i mehanizam djelovanja

Revlimid je sintetski spoj iz kategorije imunomodulatora koji se koristi za liječenje nekih vrsta raka i teških bolesti koje zahvaćaju krvne stanice i stanice koštane srži poput: folikularnog limfoma, mijelodisplastičnih sindroma te limfoma plaštenih stanica, a prvenstveno je namijenjen za liječenje multiplog mijeloma. Multipli mijelom je tumor koštane srži koji češće pogađa starije osobe. Za liječenje multiplog mijeloma obično se primjenjuje revlimid uz deksametazon (za smanjenje upale i imunskog odgovora).^{6,8,9}

Revlimid može djelovati različitim mehanizmima (slika 9) kod različitih rakova, ali može djelovati citotoksično te utjecati na imunitete tumora. S obzirom da se svaki od rakova odlikuje različitim defektima te svaki pacijent svojim općim stanjem, opažena je i različita učinkovitost revlimida na njih.⁶



Slika 9. Mehanizam djelovanja lenalidomida. Slika je preuzeta iz ⁶ te obrađena.

Revlimid je imunomodulator koji utječe na sintezu citokina, regulira kostimulaciju T stanica i povećava citotoksičnost posredovanu prirodno ubilačkim stanicama (NK). Inhibira sintezu upalnih citokina TNF- α (faktor nekroze tumora), IL-1, IL-6 i IL-12, a povećava sintezu interleukina 10 (IL-10) u limfocitima, monocitima i dendritičkim stanicama. Učinak na snižavanje izlučivanja TNF- α je čak 50 000 puta snažniji nego kod talidomida, ali točan mehanizam nije poznat (kod talidomida je povećana razgradnja mRNA koja nosi uputu za TNF- α pa se smatra da bi Revlimid mogao djelovati na sličan način). IL-6 inhibira apoptozu malignih stanica mijeloma i pomaže u njihovoj proliferaciji.

Aktivacija T stanica počinje specifičnom interakcijom – predstavljanjem peptidnih dijelova antigen-prezentirajućih stanica (APCs) receptoru T stanica (TCR). No, to nije dovoljno za učinkovit odgovor te je potrebna i sekundarna interakcija molekule B7 na APC i CD28 na površini T stanice. Na taj način se povećava odgovor T stanice, pomaže njenoj proliferaciji i diferencijaciji. Revlimid djeluje na T stanice B7-CD28 kostimulativnim putem, dovodi do povećanog Th1 tipa odgovora citokina što povećava izlučivanje IFN- γ (aktivira makrofage i dendritičke stanice) i IL-2 (pojačava djelovanje drugih T stanica, NK i B stanica). Na taj način stimulira proliferaciju T stanica, njihovu diferencijaciju te povećava citotoksičnost ovisnu o antitijelu (ADCC). Također stimulira citotoksične CD8⁺ kao i

pomoćne CD4⁺ stanice. NK stanice brzo reagiraju na kontakt s ciljnom stanicom, s obzirom da se ne vode specifičnošću za antigene poput B stanica ili T stanica. Posjeduju citotoksičnost i ADCC te izlučuju citokine poput IFN- γ i TNF- α .

Revlimid inhibira angiogenezu tako što inhibira angiostatske faktore rasta poput vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF), faktora rasta bazičnog fibroblasta (BFGF) i hepatocitnog faktora rasta. Antiangiogenetsko djelovanje se otkrilo i analizom puta prijenosa signala gdje se pokazalo da djelomično inhibira Akt (PKB) fosforilaciju i fosforilaciju Gab1, protein uzvodno od Akt 1.⁶

Revlimid potiče razgradnju nekih proteina tako što inhibira kulinski prsten kompleksa E3 ubikvitin-protein-ligaze. Vezanjem za cereblon (CRBN) podešava specifičnost za supstrat da veže Ikaros (IKZF1), Aiolos (IKZF3) i CK1 α , čime ih označava za razgradnju u proteasome. IKZF1 i IKZF3 (represor gena za IL-2) su transkripcijski faktori ključni za diferencijaciju B-stanica i preživljavanje stanica raka.⁸

Inhibira interakciju stanica multiplog mijeloma i stromalnih stanica koštane srži (BMSC), što povećava vjerojatnost apoptoze. Osim toga pokreće apoptozu i povećanjem aktivacije kaspaze-8, gušenjem inhibitora kaspaze-8 (FLIP, cIAP2), smanjivanjem aktivnosti nuklearnog faktora κ B (NF- κ B; antiapoptoznog proteinskog kompleksa) te pojačavanjem osjetljivost na apoptozu induciranu FAS-om (transmembranski protein iz TNF skupine). Može uzrokovati zastoj staničnog ciklusa u G0-G1 fazi te povećati aktivnost inhibitora ciklin-ovisne kinaze (CDKI) p21 waf-1, ključnog regulatora staničnog ciklusa koji utječe na aktivnost kinaza ovisnih o ciklinima (CDK). Smanjuje aktivnost kinaza za preživljavanje erk-1/2 i Akt2, pa time utječe na fosfoinozitolni put u CLL stanicama.

Smanjuje vjerojatnost metastaze smanjivanjem broja adhezijskih molekula poput ICAM-1, VCAM-1, E-selektina, β 1 i β 2 integrina te rad međustaničnih kanala, a time inhibira i adheziju MM stanica na BMSC.

Mijenja mikrookruženje mijeloma – smanjuje sintezu TRAP (kisela fosfataza otporna na tartarat)-pozitivnih stanica koje tvore osteoklaste, smanjuje razine α V β 3-integrina (adhezijske molekule potrebne za aktivaciju osteoklasta), smanjuje proizvodnju katepsina K (cisteinska proteaza u osteoklastima) i važnih medijatora osteoklastogeneze (npr. transkripcijski faktor PU-1, MAP kinaza PERK) te aktivatora koštanog remodelirajućeg faktora koji je receptor za NF- κ B. Sve to utječe na sinergizam osteoklasta, stanica MM i BMSC-a, to jest smanjuje diferencijaciju monocita u osteoklaste.

Opažena je bolja učinkovitost lijeka u stanicama s delecijom kromosoma 5q (točan mehanizam još nije poznat). Smatra se da postoji nekoliko tumor supresorskih gena na čiju ekspresiju se može utjecati Revlimidom, posebno visokom ekspresijom ističu se VSIG4, PPIC, TPBG i SPARC. SPARC ima antiproliferativna, antiadhezijska i antiangiogenetska svojstva. Većina gena iz učestalo deletirane regije (CDR) je imala nižu ekspresiju, osim nekoliko gena kandidata (RBM22, CSNK1A1, SPARC i RPS14). Nedavno je otkriveno da je CSNK1A1 važan za Hedgehog signalizaciju koja kontrolira rast stanice i njegova deregulacija je opažena kod tumora. Opaženo je i da je kazein kinaza 1A1 (CRBN supstrat ovisan o Revlimidu u MM stanicama) kritična za aktivnost Revlimida u MDS del(5q). Gen za kazein kinazu 1A1 nalazi se unutar CDR-a, a eksprimira se tek oko pola normalne razine u usporedbi s normalnim stanicama.⁶

Lijek potiče razgradnju CK1 α , koju normalne stanice s dvije kopije CSNK1A1 mogu tolerirati, ali ubija del(5q) stanice jer one ekspimiraju ovaj gen na 50% normalne razine. Uzrokuje zastoj staničnog ciklusa posredovanog p53 i smrt stanica koje su heterozigoti za CSNK1A1.⁸

Revlimid cilja i neke haplodeficijentne mete unutar CDR-a, poput fosfataza dualne specifičnosti Cdc25c i PP2A α . One su regulatori kontrolne točke G2-M, pa njihova inhibicija može dovesti do zastoja G2 i apoptoze. S obzirom da ubikvitinira CK1 α za razgradnju u proteasomu, stanice s del(5q) imaju nižu ekspresiju tog gena, osjetljivije su na njegovu razgradnju. Smatra se da je ovo prvi lijek odobren od FDA-e koji temelji svoj terapijski prozor na ciljanju specifično haploinsuficijantnog proteina.^{6,8}

2.2. Opdivo (nivolumab)

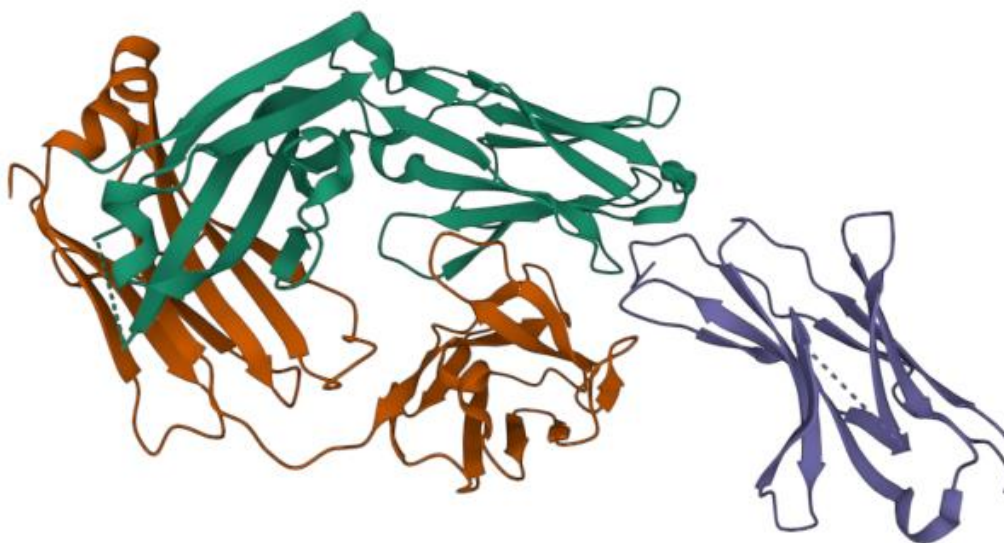
2.2.1. Upotreba

Opdivo je humanizirano imunoglobulinsko G4 (IgG4) anti PD-1 monoklonsko antitijelo. Koristi se kao lijek prvog izbora za liječenje metastatskog ili neoperabilnog melanoma u kombinaciji s ipilumabom (monoklonsko antitijelo koje aktivira receptor citotoksičnih limfocita A-4) ako postoje mutacije na genu BRAF (proto-onkogen). Ako stanice ne sadržavaju mutaciju na genu BRAF, tada se primjenjuje kao lijek drugog izbora s BRAF inhibitorima. Može se primijeniti i kao lijek drugog izbora za bubrežni stanični karcinom ukoliko antiangiogenetska terapija nije uspjela te za liječenje rožnatih nemalih stanica raka pluća (NSCLC) sa ili nakon primjene lijekova temeljenih na platini.

Nije ispitivan na trudnicama jer su ispitivanja na životinjama pokazala da oštećuje fetus.^{1,10}

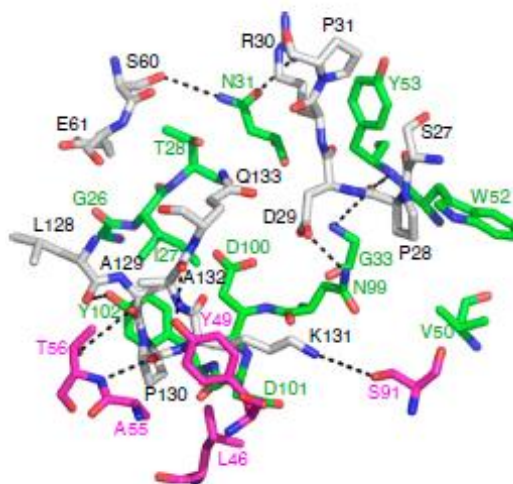
2.2.2. Struktura

Monoklonsko tijelo Opdivo sastoji se od teškog (zeleno) i lakog lanca (narančasto). Prikazan je i protein programirane stanične smrti 1 (PD-1; plavo) kako bi se prikazalo mjesto za vezanje antigena (Fab; Slika 10).



Slika 10. Struktura kompleksa PD-1 i Fab regije Opdiva dobivena iz PDB. Teški lanac je prikazan zelenom, laki lanac narančasto i PD-1 plavom bojom (5WT9).¹¹

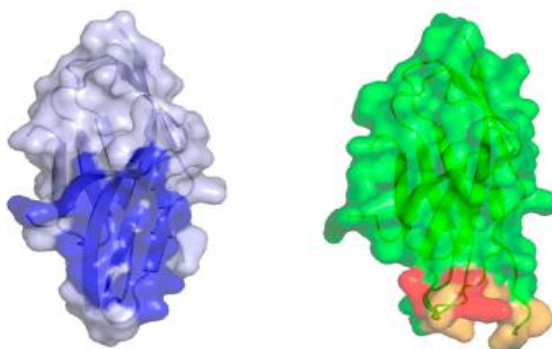
Vidljivi su elementi sekundarne strukture: α -zavojnice i β -nabrane ploče te β -okreti i motivi poput β - α - β omče. Fab dio teškog lanca sadrži 5 3_{10} zavojnica, 2 disulfidne veze, 6 izoliranih β -mostova, 18 β -lanaca, 7 okreta tipa I, 4 okreta tipa II, 5 okreta tipa IV i 2 okreta tipa VIII. Laki lanac sadrži 2 α -zavojnice, 2 disulfidne veze, 6 izoliranih β -mostova, 19 β -lanaca, 5 okreta tipa I, 2 okreta tipa I', 3 okreta tipa II, 2 okreta tipa II', 9 okreta tipa IV i 2 okreta tipa VIII (brojevi pojedinih struktura su dobiveni temeljem podataka sa stranice Protein Data Bank-a te obrađeni u Stride-u. Navedeni postupak je ponovljen i kod ostalih monoklonskih antitijela).¹² Između PD-1 i Nivolumab-Fab postoje vodikove veze i van der Waalsove interakcije (slika 11).¹³



Slika 11. Stereokemijski prikaz područja na kojem interagiraju PD-1 i Nivolumab-Fab. Ugljikovi atomi PD-1 označeni su sivom bojom, teškog lanca zeleno te lakog lanca ljubičasto. Interakcije solnog mosta i vodikovih veza označene su isprekidanim crtama.¹³

2.2.3. Mehanizam

PD-1 je protein na površini aktiviranih T stanica. Vezanjem PD-L1 ili PD-L2 (ligand programirane stanične smrti 2) na PD-1 dolazi do inaktivacije T stanica. Mnoge stanice raka stvaraju PD-1 i tako se štite od T stanica. Opdivo se veže na PD-1 inhibirajući vezanje PD-L1 na PD-1 (slika 12) te tako osigurava da se T stanice aktiviraju i imunostani uništi stanice raka. To se naziva imunom blokadom u kontrolnoj točki.^{1,10,14,15}



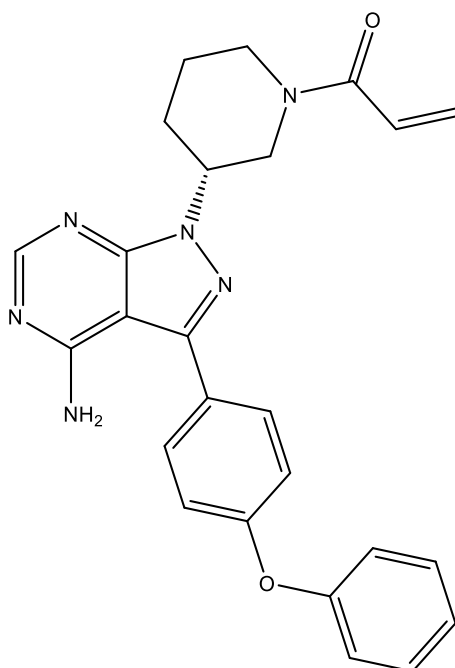
Slika 12. Kompleks PD-1/PL-L1 (lijevo) i kompleks PD-1/nivolumab (desno). Površina PD-1 u lijevom kompleksu je obojana svijetlo plavo, a vezno mjesto za PD-L1 je obojeno plavo. Na desnom kompleksu zeleno je označena površina PD-1 u PD-1/anti-PD-1, epitop za teški lanac crveno i za laki lanac narančasto.¹³

2.3. Imbruvica (ibrutinib)

2.3.1. Struktura

Ibrutinib je mala molekula iz skupine akrilamida, to jest na dušiku piperidinskog prstena nalazi se akrilna skupina (slika 13). Može se još svrstati pod pirazolopirimidin, aromatski amin i eter, N-akrilpiperidin i tercijarni karboksamid. Njegovo puno ime prema IUPAC-u glasi 1-[(3*R*)-3-[4-amino-3-(4-fenoksifenil)pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il]piperidin-1-il]prop-2-en-1-on.

Dobro je topljiv je DMSO-u i metanolu, a gotovo netopljiv u vodi.¹⁶



Slika 13. Struktura ibrutiniba nacrtana programom ChemDraw.

2.3.2. Upotreba

Imbruvica inhibira Brutonovu tirozin kinazu (BTK) koja je važna molekula za signalizaciju receptora B stanica. Tako blokira signale koji potiču rast i nekontroliranu diobu malignih B stanica.

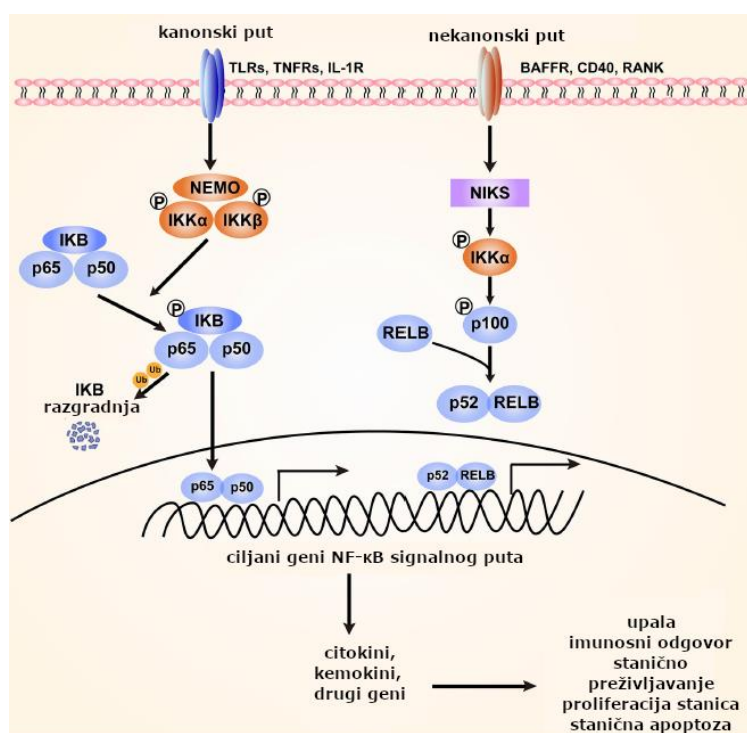
Najčešće se koristi za liječenje: relapsnog ili refraktornog limfoma plaštenih stanica (MCL), kronične limfocitne leukemije (CLL), limfoma malih limfocita (SLL), Waldenströmove makroglobulinemije (WM), limfoma marginalne zone (MLZ) i kronične bolesti presatka protiv primatelja (GVHD).¹⁶

Istraživanja na životinjama su pokazala da može izazvati oštećenja fetusa te se ne smije koristiti tijekom trudnoće, a trudnoću je potrebno izbjegavati i do tri mjeseca nakon korištenja lijeka.¹⁷

2.3.3. Mehanizam

Brutonova tirozin kinaza (BTK) je važna u signalnim putevima B-staničnih receptora za antigene (BCR) i receptora za citokine. Pomoću nje se aktiviraju putevi potrebni za migraciju, kemotaksiju (CXCL 12, CXCL 13) i adheziju B stanica.^{17,18} Ibrutinib inhibira BTK tvoreći kovalentnu vezu s bočnim ogrankom cisteina (Cys481) u aktivnom mjestu. Tako sprječava fosforilaciju nizvodnih supstrata poput fosfolipaze C- γ (PLC- γ ; uključena u prijenos signala), što dovodi do smanjene ekspresije Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1 (antiapoptozni protein) i CD20. Gasi nizvodne puteve važne za preživljavanje koji su inače aktivirani BTK-om, kao što su ERK1/2, PI3K i NF- κ B.^{16,18}

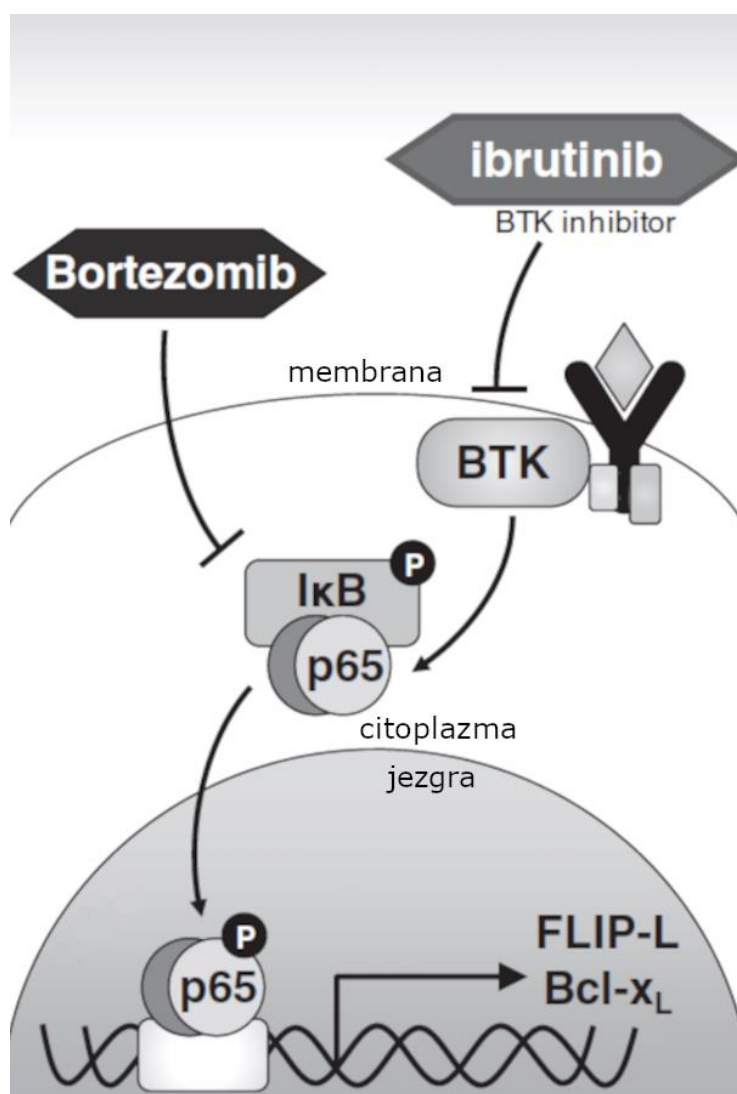
Ibrutinib potiče apoptozu, inhibira proliferaciju i odgovore CLL stanica na podražaje za preživljavanje iz mikrookruženja (BAFF, IL-6, IL-4, TNF- α).^{17,18}



Slika 14. Kanonski i nekanonski NF- κ B signalni put. TLR-ovi, TNFR-ovi i IL-6R pokreću kanonski put. Aktivacija ove kaskade vodi do fosforilacije i razgradnje inhibitornog proteina I κ B. Komplex koji sadrži I κ B aktivira NF- κ B koji potom putuje u jezgru. Nekanonski put ovisi o aktivaciji kompleksa NF- κ B2 (p100)/ RelB od strane BAFFR-a, CD40, i RANK-a. Ova kaskada vodi fosforilaciji NIK-a koji potom fosforilira IKK α . Zatim se aktivira p52-RelB heterodimer te odlazi u jezgru. Aktivacija NF- κ B signalizacije regulira razne stanične procese upravljajući ekspresijom citokina, kemokina i drugih gena. Slika je preuzeta iz¹⁹ te obrađena.

NF- κ B protein je heterodimer sastavljen od p50 i p65 podjedinica, kojeg u citosolu inaktivira κ B inhibitor (I κ B α). Ibrutinib inhibira fosforilaciju bočnog ogranka serina (Ser536) na p65 podjedinici, što ju sprječava da uđe u jezgru. To uzrokuje smanjenu ekspresiju Bcl-xL, FLIP_L i survivina (ali ih i inhibira), što dovodi do apoptoze posredovane kaspazama u malignim plazma stanicama. NF- κ B put je glavni za preživljavanje stanica MM i maligne B stanice ekspimiraju višu razinu BTK u usporedbi s normalnim stanicama.

Imbruvica potiče citotoksičnost kod MM pacijenata, ali i povećava citotoksične učinke lenalidomida i bortezomiba (značajnije pojačanje; aktivacija NF- κ B kanonskim putem; slika 14 i 15). S obzirom da nisu opaženi citotoksični učinci na monocite i CD34+, pretpostavlja se da nije riječ o nespecifičnoj citotoksičnosti.²⁰



Slika 15. Shema povećanja stanične smrti u MM kemoterapeutske pomognute ibrutinibom.

Slika je preuzeta iz²⁰ te obrađena.

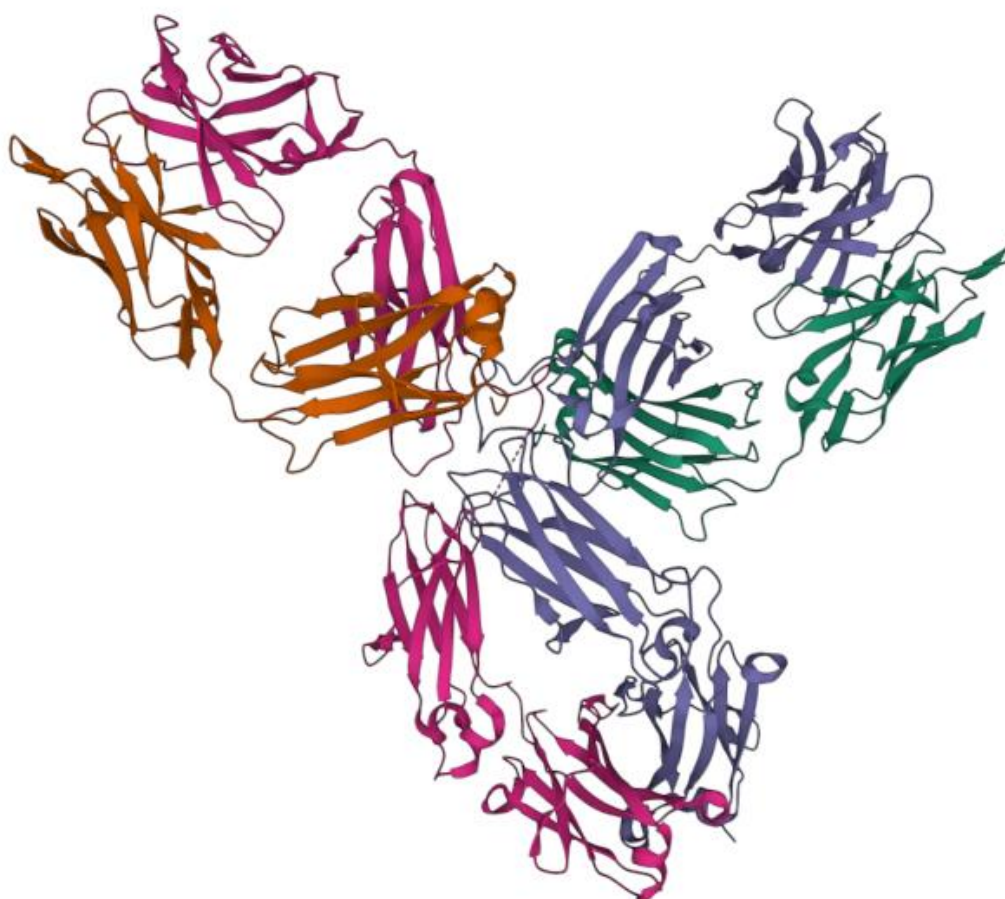
2.4. Keytruda (pembrolizumab)

2.4.1. Struktura

Pembrolizumab je IgG4- κ humanizirano monoklonsko antitijelo koje se veže na PD-1 receptore (slika 16).^{21,22} Na ljudski IgG4- κ izotip koji sadrži stabilizirajuću S228P Fc mutaciju presađena (engl. grafting) je varijabilna regija mišjeg antiljudskog PD-1 antitijela s velikim afinitetom.

Teški lanac sadrži 15 3_{10} zavojnice, 5 α -zavojnice, 10 disulfidnih veza, 14 β -izoliranih mostova, 1 obrnuti γ -okret, 71 β -lanaca, 23 okreta tipa I, 3 okreta tipa I', 9 okreta tipa II, 31 okreta tipa IV, 7 okreta tipa VIII i 2 okreta tipa VIII'.

Dok se pak laki lanac sastoji od 3 3_{10} zavojnice, 2 α -zavojnice, 6 disulfidnih veza, 10 β -izoliranih mostova, 2 obrnuta γ -okreta, 42 β -lanaca, 9 okreta tipa I, 6 okreta tipa I', 6 okreta tipa II, 2 okreta tipa II', 19 okreta tipa IV' i 2 okreta tipa VI a.¹²



Slika 16. Monoklonsko tijelo pembrolizumab s prikazanim teškim lancima (plava i ljubičasta) i lakim lancima (narančasta i zelena; 5DK3).²³

2.4.2. Upotreba

Keytruda je imunoterapija koja se koristi za liječenje brojnih bolesti, kao što su: melanom, rak pluća nemalih stanica (NSCLC), skvamozni rak stanica glave i vrata (HNSCC), klasični Hodgkinov limfom (cHL), primarni medijastinalni limfom B stanica (PMBCL), rak mokraćnog mjehura (urotelni karcinom), rak želuca i jednjaka, adenokarcinom gastroezofagealnog spoja, rak vrata maternice, rak jetre, rak kože (karcinom Merkel stanica, MCC i planocelularni karcinom kože, cSCC), rak bubrežnih stanica (RCC), trostruko negativan rak dojke (TNBC), karcinom s visokom mikrosatelitskom nestabilnosti (MSI-H) ili nedostatkom mehanizma popravka pogrešno spojenih baza (dMMR) u debelom crijevu (kolorektalni rak), maternici (karcinom endometrija), želucu (rak želuca), tankom crijevu (rak tankog crijeva), žučovodu ili žučnom mjehuru (rak žučnog mjehura i vodova).

Može se primjenjivati kao monoterapija ili u kombinaciji s nekim drugim antitumorskim lijekovima. Ne smije se koristiti u trudnoći jer prolazi kroz placentalnu barijeru i može naškoditi fetusu.²⁴

2.4.3. Mehanizam

Pembrolizumab je IgG4- κ humanizirano monoklonsko antitijelo koje inhibicijom PD-1 puta sprječava da se stanice raka sakriju od imunskog sustava, ali može uzrokovati i da imunski sustav napadne zdrava tkiva i utjecati na njihovo funkcioniranje (hepatitis, nefritis, pneumonitis) ili pak da određeni patogeni opstanu u organizmu.^{21,22} (Osim što vezanje liganada na PD-1 receptor smanjuje okolnu štetu nakon imunskih odgovora na patogen, povećava majčinu toleranciju na tkivo fetusa.) Stoga je potrebno redovito pratiti stanje pacijenta (laboratorijske pretrage jetre, bubrega i štitnjače) kako bi se na vrijeme uočili znakovi reakcija uzrokovanih imunskim sustavom.²²

Veže se na receptor programirane stanične smrti-1 (PD-1) i tako sprječava vezanje PD-L1 i PD-L2 koji inaktiviraju T stanice (njihovu proliferaciju i sintezu citokina).^{21,22,24,25} PD-1 je odgovoran za sprječavanje da imunski sustav ne napadne vlastita tkiva. To je imunosa kontrolna točka.^{21,25}

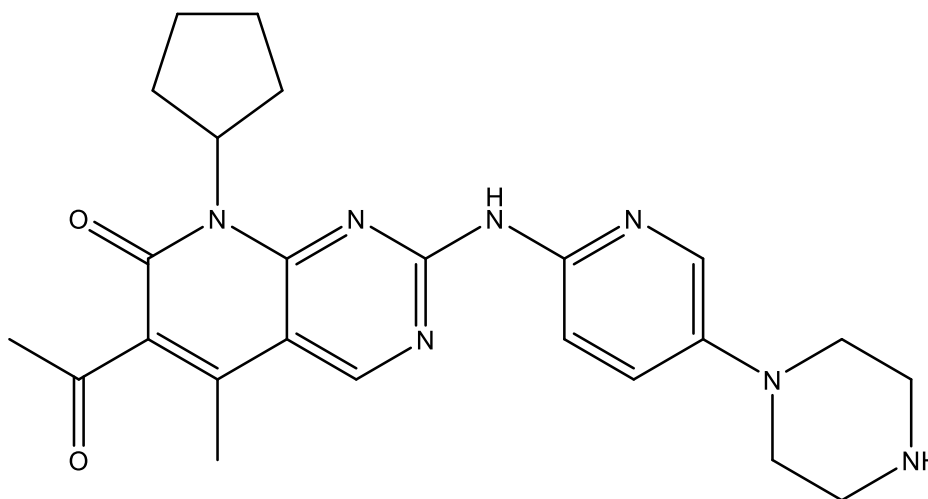
Budući da je uz pembrolizumab često provjera sparivanja baza DNA onemogućena, dolazi do mikrosatelitne nestabilnosti i sinteze mutiranih proteina koji mogu služiti kao tumorski antigeni koji će pokrenuti imunski odgovor protiv tumora.²⁵

Korištenjem lenvatiniba (inhibitor više tirozin kinaza) uz pembrolizumab postiže se antiangiogenetski učinak, stvara se tumorsko mikrookruženje s većom aktivacijom T stanica te prevladava primarna i stečena rezistencija na imunoterapiju. Opažena je veća antitumorska aktivnost nego pri korištenju svakog od lijekova zasebno.²⁴

2.5. Ibrance (palbociclib)

2.5.1. Struktura

Ibrance se sastoji od piperazinskog, piridopirimidinskog i piridinskog prstena, 2 keto skupine i ciklopentilnog supstituenta (slika 17). Prema IUPAC-u se naziva 6-acetil-8-ciklopentil-5-metil-2-[(5-piperazin-1-ilpiridin-2-il)amino]pirido[2,3-d]pirimidin-7-on.²⁶



Slika 17. Struktura palbocicliba nacratana programom ChemDraw.

2.5.2. Upotreba

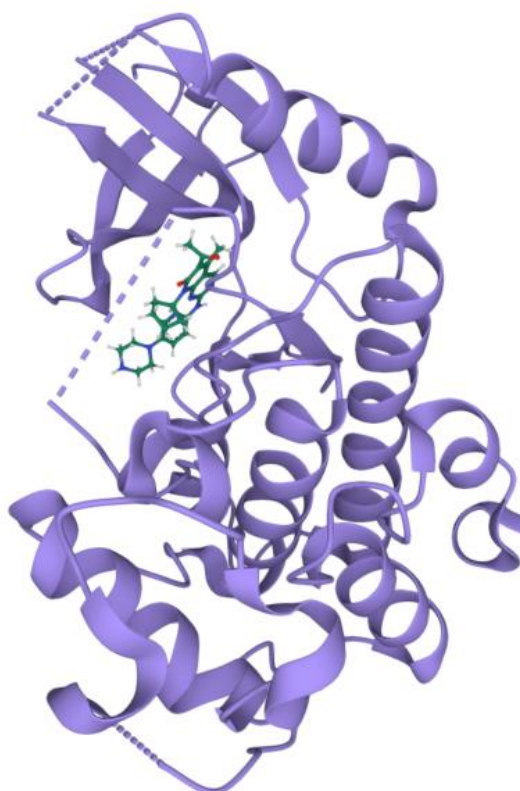
Palbociclib se koristi za liječenje lokalno uznapredovalog ili metastatskog raka dojke pozitivnog na hormonski receptor (HR), negativnog na receptor humanog epidermalnog faktora rasta 2 (HER2).

Obično se kombinira s inhibitorom aromataze ili fulvestrantom (kod žena koje su bile liječene hormonski lijekom).²⁶⁻²⁷

U žena u pre- i perimenopauzi potrebno je lijek uzimati s agonistom hormona koji oslobađa luteinizirajući hormon (LHRH).²⁷

2.5.3. Mehanizam

Palbociclib je reverzibilni selektivni inhibitor kinaza ovisnih o ciklinima 4 i 6 (CDK4 i CDK6; slika 18). To je prvi inhibitor CDK4/6 koji je odobren za liječenje tumora. CDK 4 i 6 su važne u regulaciji staničnog ciklusa. U G₁ fazi poraste količina ciklina D koji se potom veže na CDK4 i CDK6. Kompleksi koji nastaju fosforiliraju pRB, što omogućuje da stanica prijeđe tu kontrolnu točku i uđe u S fazu. Inhibicijom CDK4/6 onemogućuje se stanični prijelaz iz G₁ u S fazu, a time i sintezu DNA te proliferaciju stanica.^{26,27}



Slika 18. Struktura ljudskog CDK6 (ljubičasto) i palbocicliba gdje je ugljik označen zeleno, dušik plavo, kisik crveno i vodik bijelo (5L2I).²⁸

2.6. Tecentriq (atezolizumab)

2.6.1. Upotreba

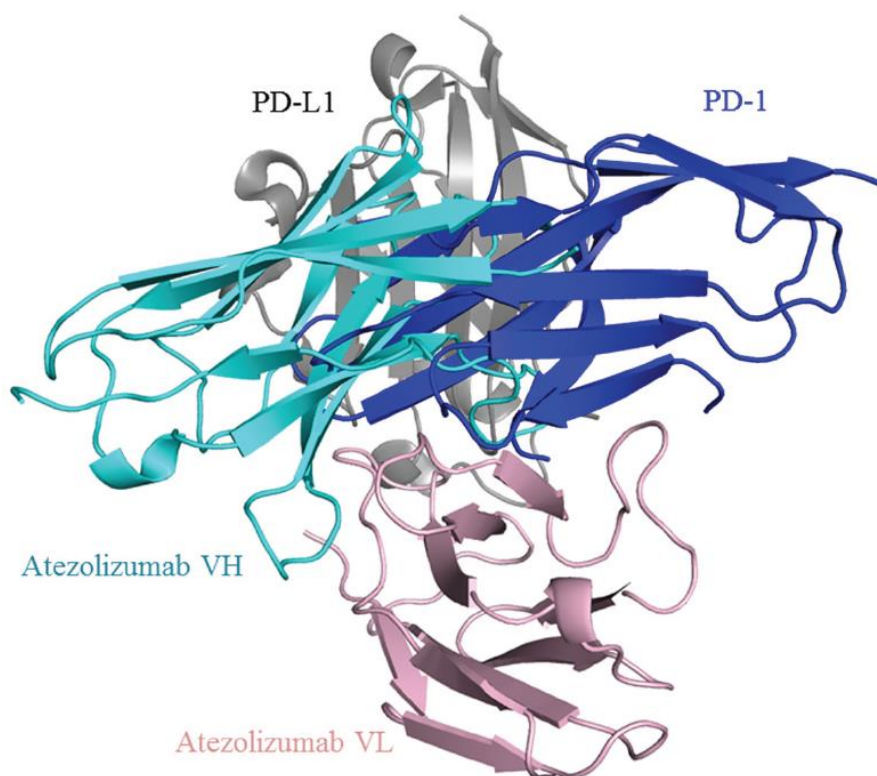
Atezolizumab je humanizirano IgG1 monoklonsko antitijelo koje se veže na PD-L1 i tako inhibira njegovu interakciju s PD-1 i B7-1 (CD80 receptori).^{29,30} Također je prvi PD-L1 inhibitor odobren od FDA.^{30,31}

Koristi se za liječenje urotelnog raka, raka pluća nemalih stanica (NSCLC), raka pluća malih stanica (SCLC), trostruko negativnog raka dojke i hepatocelularnog raka. Može se koristiti kao monoterapija ili u kombinaciji s drugim antitumorskim lijekovima, te ponekad nakon kirurškog zahvata ili nakon upotrebe drugih lijekova protiv raka.^{29,30,32,33}

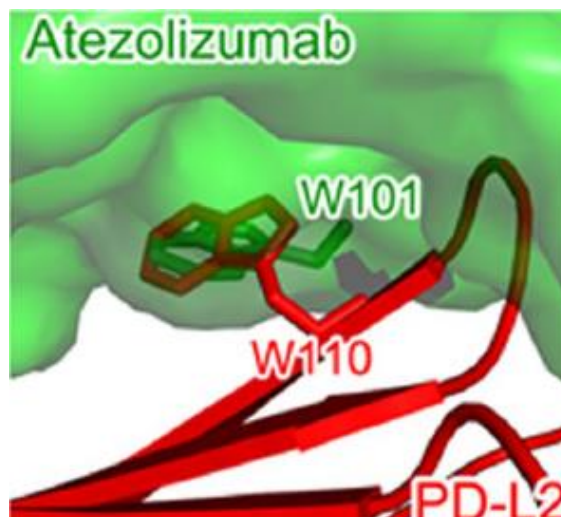
S obzirom da može proći kroz placentalnu barijeru, može oštetiti fetus te dovesti do pobačaja ili mrtvorodenja.²⁹

2.6.2. Mehanizam

Tecentriq inhibicijom vezanja PD-1 na PD-L1 (inhibicija imunosne kontrolne točke; slika 19 i 20) omogućuje aktivaciju T stanica i njihovo otkrivanje raka te uništenje stanica raka, bez citotoksičnosti ovisne o antitijelima (ADCC). Tecentriq ne utječe na vezanje PD-1 i PD-L2 te ne dolazi do toksičnosti povezane s imunosnim sustavom.^{30,33,34}

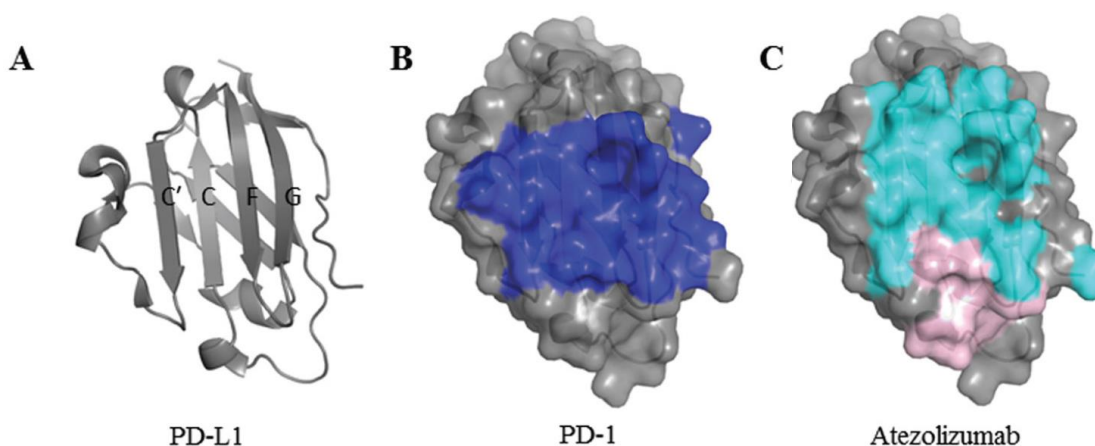


Slika 19. Preklapanje kompleksa PD-1/PD-L1 i PD-L1/atezolizumab (teški lanac-svijetlo plava, laki lanac-svijetlo ljubičasta) upućuje da atezolizumab kompetira s PD-1 za vezno mjesto. Zbog jednostavnosti izostavljeni su CH1 domena teškog lanca i CL domena lakog lanca.³¹



Slika 20. Preklapanje kompleksa atezolizumab/PD-L1 (zeleno) i PD-L2 (crveno) zbog kojeg ne dolazi do vezanja atezolizumaba na PD-L2.³⁴

Kompetira s PD-1 ($K_d=8.2 \mu\text{mol/L}$) za vezno mjesto na PD-L1 (dok K_d za tecentriq iznosi manje od 1 nmol/L ; slika 21). Točna molekulska pozadina još nije razjašnjena.³⁴



Slika 21. Struktura PD-L1 (A) i vezna površina koju zauzimaju PD-1 (B) i atezolizumab (C; teški lanac-svijetlo plava, laki lanac-svijetlo ljubičasta). Prednja β -ploča se sastoji od C', C, F i G lanaca.³¹

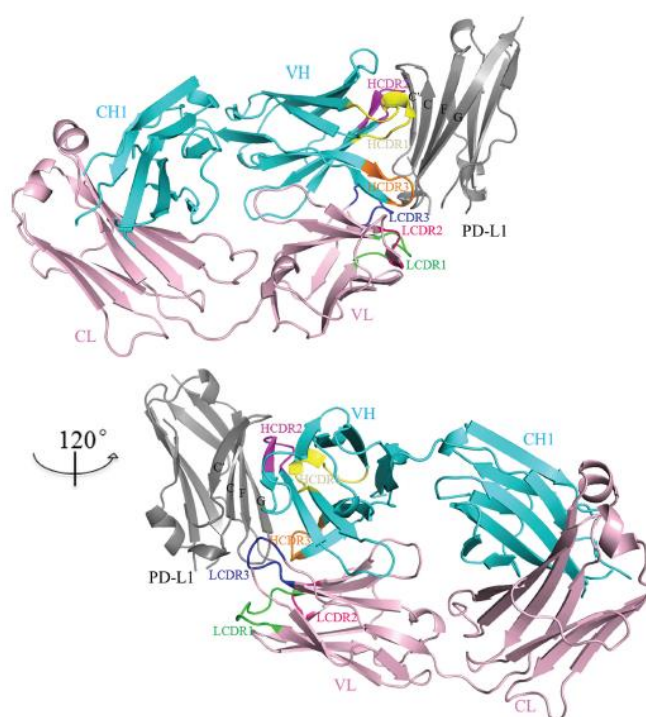
2.6.3. Struktura

Kao i svako monoklonsko antitijelo sastoji se od teškog i lakog lanca. Teški lanac veznog mjesta za vezanje (Fab) sastoji od 2 3_{10} zavojnice, 2 disulfidne veze, 2 β -izoliranih mostova, 19 β -lanaca, 9 okreta tipa I, 4 okreta tipa II, 5 okreta tipa IV' i 1 okreta tipa VIII', a laki lanac se

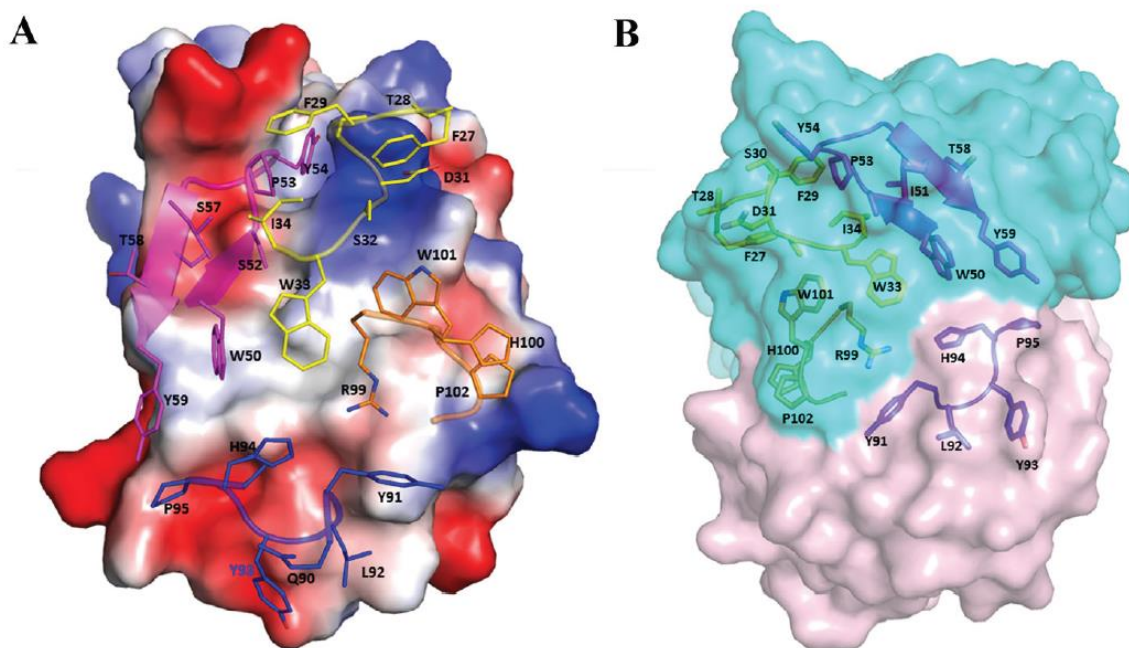
sastoji od 3₁₀ zavojnice, 2 α -zavojnice, 2 disulfidne veze, 4 β -izoliranih mostova, 19 β -lanaca, 2 okreta tipa I, 1 okreta tipa I', 3 okreta tipa II, 11 okreta tipa IV' i 5 okreta tipa VIII'.¹² Zbog veličine teško prodire u tkiva.

Razlikuju se i mjesto vezanja antigena (Fab) i kristalizabilni fragment (Fc). Fc je tako dizajniran da se ne javlja citotoksičnost ovisna o antitijelima (ADCC) ili citotoksičnost ovisna o komplementu (CDC) kako se ne bi uništile T stanice koje eksprimiraju PD-L1.

Atezolizumab se veže na gornju stranu blizu N-kraja PD-L1 te poprima uski oblik Y ako veže dva susjedna PD-1 s dvije ruke IgG.³⁴ Veže prednju β -ploču pomoću 3 CDR petlje teškog lanca i jedne CDR petlje lakog lanca (slika 22 i 23).³¹

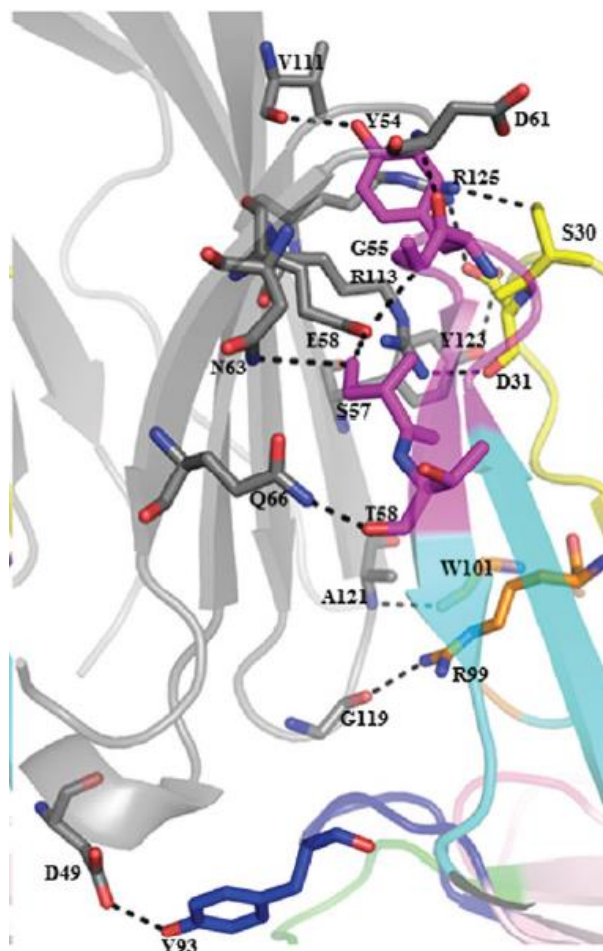


Slika 22. Kompleks PD-L1/atezolizumab gdje je varijabilno područje sivo, teški lanac svijetlo plav i laki lanac svijetlo ljubičast. CDR petlje teškog lanca su žuta (HCDR1), ljubičasta (HCDR2) i narančasta (HCDR3) te CDR lakog lanca zelena (LCDR1), ružičasta (LCDR2) i plava (LCDR3).³¹



Slika 23. Elektrostatska površina PD-L1 s označenim najvažnijim bočnim ograncima CDR petlji atezolizumaba. HCDR1 je označena žutom, HCDR2 ljubičastom i HCDR3 narančastom te LCDR3 plavom bojom(A). Vezna površina atezolizumaba je prikazana svijetlo plavim.teškim lancem i svijetlo ljubičastim lakim lancem. Istaknuti su neki od ključnih bočnih ogranaka teškog i lakog lanca (B).³¹

Između atezolizumaba i PD-L1 se ostvaruju vodikove veze, solni mostovi, van der Waalsove i hidrofobne interakcije (slika 24). To dovodi do konformacijske promjene BC petlje PD-L1.³⁴



Slika 24. Stereokemijski prikaz kompleksa PD-L1/atezolizumaba s detaljno prikazanim vodikovim vezama.³¹

2.7. Darzalex (daratumumab)

2.7.1. Upotreba

Darzalex se koristi za liječenje multiplog mijeloma kao monoterapija ili terapijska kombinacija i liječenje primarne amiloidoze (AL) u kombinaciji s drugim lijekovima.

Kao monoterapija primjenjuje se za liječenje relapsnih i refrakternih multiplih mijeloma koji su prethodno bili liječeni inhibitorom proteasoma i imunomodulatorom, a bolest je otad napredovala.

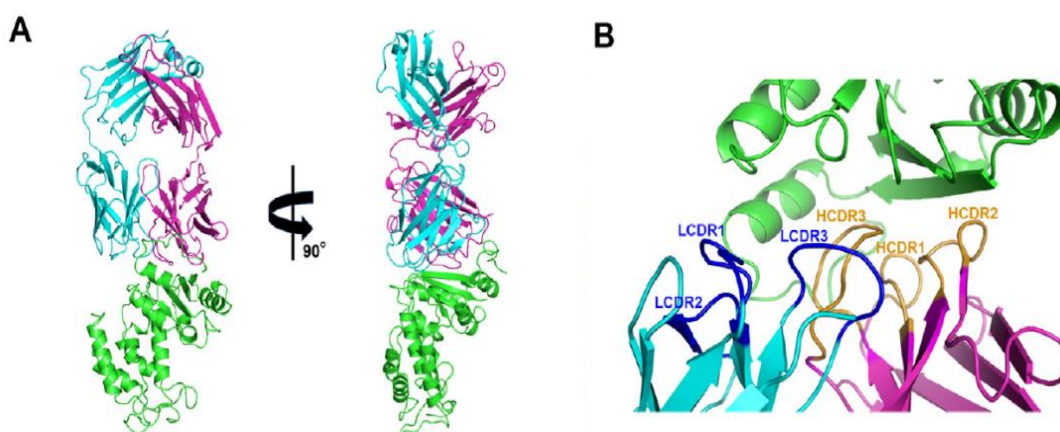
Ako su bolesnici primili barem jednu terapiju, primjenjuje se u kombinaciji s lenalidomidom i deksametazonom (kortikosteroid koji smanjuje imunosni odgovor i upalu) ili bortezomibom (inhibitor proteasoma) i deksametazonom. Kod bolesnika s novodijagnosticiranim multiplim mijelomom, a koji nisu prikladni za autolognu transplantaciju matičnih stanica, koristi se u kombinaciji s lenalidomidom i deksametazonom ili

bortezomibom, melfalanom (alkilirajući lijek) i prednizonom (kortikosteroid koji smanjuje imunosti odgovor i upalu). Kod bolesnika koji su prikladni za autolognu tranplantaciju matičnih stanica, koristi se u kombinaciji s bortezomibom, talidomidom i deksametazonom.^{35,36}

2.7.2. Struktura

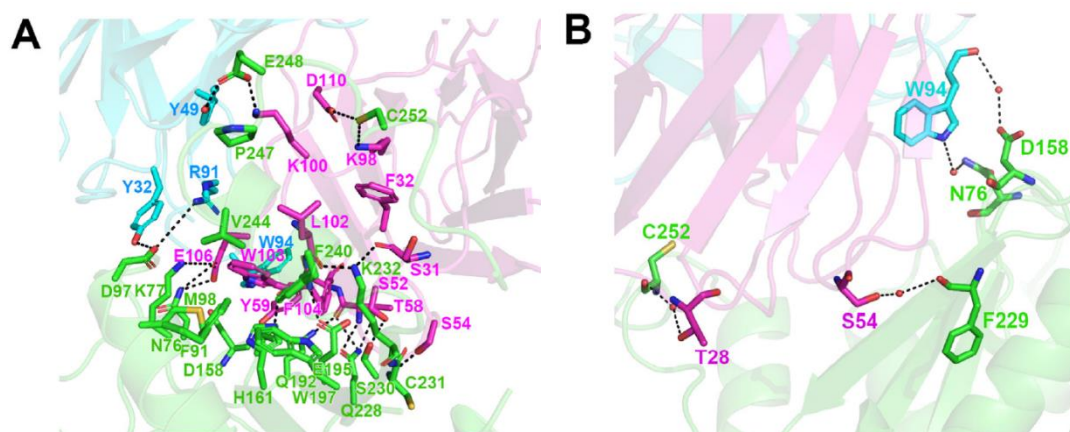
Darzalex je IgG1 κ humano monoklonsko antitijelo koje se veže na CD38 na površini stanice (slika 25).^{35–37} Teški lanac mjesta za vezanje antigena sadrži 5 310 zavojnica, disulfidnu vezu, 4 β -izolirana mosta, 19 β -lanaca, 7 okreta tipa I, 4 okreta tipa II, 3 okreta tipa IV i okret tipa VIII. Laki lanac sadrži 310 zavojnica, 2 α -zavojnice, 2 disulfidne veze, 6 β -izoliranih mostova, 19 β -lanaca, 3 okreta tipa I, 3 okreta tipa II, 2 okreta tipa II', 10 okreta tipa IV' i 4 okreta tipa VIII'.¹²

Svih šest CDR-ova sudjeluje u interakciji s CD38.³⁸



Slika 25. Struktura kompleksa CD38/daratumumab Fab s označenim CD38 zeleno, teškim lancem Fab-a ljubičasto i lakim lancem Fab-a svijetlo plavo (A). Regije koje određuju komplementarnost (CDRs) u kompleksu CD38/daratumumab Fab. HCDR su označene tamno plavom bojom, a LCDR žutom bojom.³⁸

U kompleksu CD38/daratumamb Fab ostvaruju se vodikove veze, ionske, van der Waalsove i hidrofobne interakcije te doprinose visokom afinitetu vezanja ($K_d=4,36$ nmol/L; slika 26).³⁸

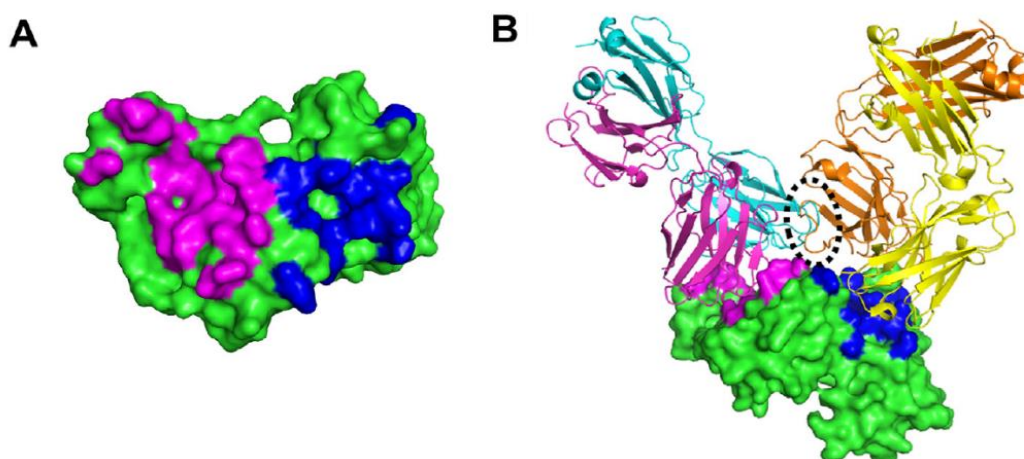


Slika 26. Stereokemijski pregled vodikovih veza, ionskih i hidrofobnih interakcija na dodiru CD38 i daratumumaba (A). Vodikove veze u kompleksu potpomognute vodom (B). Ugljikovi atomi CD38 su označeni zelenom, teškog lanca ljubičastom i lakog lanca svijetlo plavom bojom, a navedene interakcije isprekidanim crtama.³⁸

2.7.3. Mehanizam

CD38 (engl. cluster of differentiation 38) je transmembranski glikoprotein tipa II važan za prijenos signala, receptorom posredovanu adheziju i enzimsku aktivnost (može doprinijeti imunološkoj supresiji), eksprimiran na plazma stanicama i stanicama multiplog mijeloma. Izvanstanična domena ima enzimsku aktivnost ADP-ribozil ciklaze i hidrolaze cikličke adenozin difosfat riboze koja stvara cADPR i nikotinsku kiselinu adenin dinukleotid fosfat (NAADP⁺; glasnik koji mobilizira Ca²⁺) iz citoplazmatskog NAD⁺ i NADP⁺.³⁸

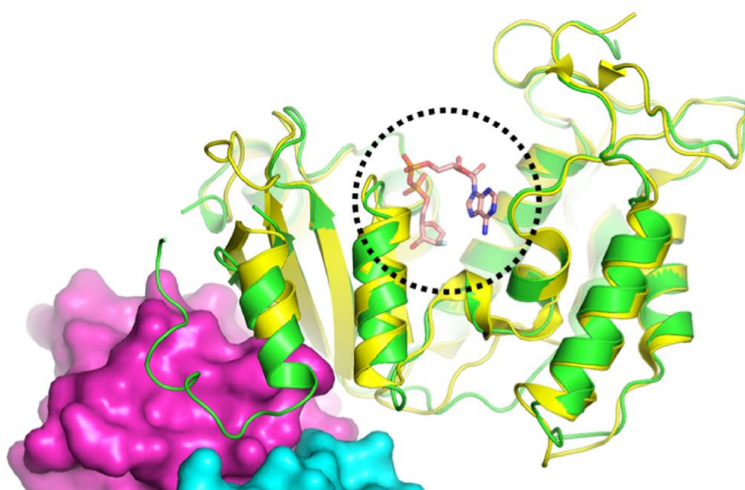
Daratumumab i isatuximab se vežu na CD38, ali na različite sljedove aminokiselina epitopa (slika 27).^{37,38}



Slika 27. Površinski prikaz epitopa daratumumaba (ljubičasto) i isatuximaba (plavo) na CD38 (zeleno). (A) Vezanje daratumumaba (teški lanac ljubičasto, laki lanac svijetlo plavo) i isatuximaba (teški lanac narančasto, laki lanac žuto) na CD38 (zeleno) s označenim steričkim preklapanjem (iscrtkana elipsa).³⁸

Daratumumab je IgG1 κ humano monoklonsko antitijelo koje se veže na CD38 (točan mehanizam nije poznat) i inhibira njegovu ciklaznu aktivnost, a stimulira hidrolaznu aktivnost te pokreće efektorske funkcije posredovane Fc-om poput: citotoksičnosti ovisne o antitijelima (ADCC; aktivacija NK stanica), citotoksičnosti ovisne o komplementu (CDCD; aktivacija komplementa) i fagocitoze ovisne o antitijelima (ADCP; aktivacija fagocita, npr. makrofaza). S obzirom da i normalne stanice ekspimiraju CD38, daratumumab može imati učinak i na njih. Srećom, neki rakovi previše ekspimiraju CD38 te daratumumuab ima veći afinitet za takve stanice.

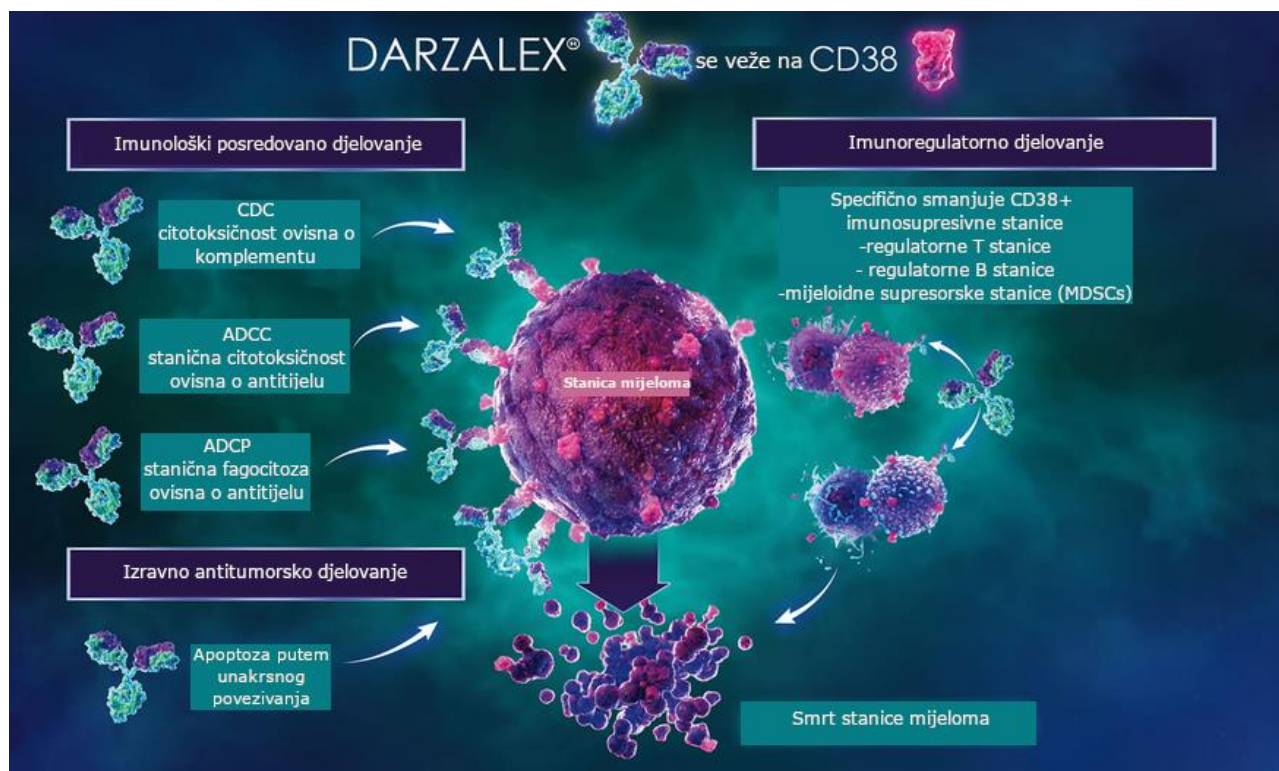
Prilikom vezanja dolazi do konformacijske promjene C-terminalne regije CD38, ali ne ometa vezanje supstrata i otpuštanje produkata jer je epitop smješten na suprotnoj strani od aktivnog mjesta CD38 (slika 28). Moguće da vezanje alosterički utječe na enzimsku aktivnost CD38.³⁸



Slika 28. Usporedba konformacija kompleksa CD38 (žuto)/analog supstrata (narančasto) i CD38 (zeleno) /daratumumab (ljubičasto-teški lanac, svijetlo plavo-laki lanac). Aktivno mjesto CD38 je označeno isprekidanom kružnicom.³⁸

Daratumumab indirektno pokreće apoptozu tijekom unakrsnog povezivanja posredovanog Fc receptora (slika 29).

Korištenjem ljudskih i majmunskih varijanti CD38 otkriveno je da je serin na poziciji 230 važan za vezanje daratumumaba (korištenjem mutanta S230F sprječava vezanje, ne ostvaruje se povezivanje vodikovom vezom te dolazi do preklapanja s paratopnom regijom).³⁸



Slika 29. Pretpostavljeni mehanizam djelovanja darzalex. Slika je preuzeta iz ³⁹ te obrađena.

2.8. Perjeta (pertuzumab)

2.8.1. Struktura

Perjeta je monoklonsko antitijelo koje vezanjem na HER2 inhibira nastanak heterodimera ErbB obitelji (slika 30).⁴⁰ Njen laki lanac sadrži 3₁₀ zavojnicu, 2 α -zavojnice, 15 izoliranih β -mostova, 6 disulfidnih veza, 39 β -lanaca, 15 okreta tipa I, 2 okreta tipa I', 4 okreta tipa II, okret tipa II', 22 okreta tipa IV i 7 okreta tipa VIII.

Teški lanac sadrži 9 3₁₀ zavojnica, 8 izoliranih β -mostova, 4 disulfidne veze, 2 inverzna γ -okreta, 37 β -lanaca, 15 okreta tipa I, 8 okreta tipa II, 4 okreta tipa II, 17 okreta tipa IV i 4 okreta tipa VIII.¹²



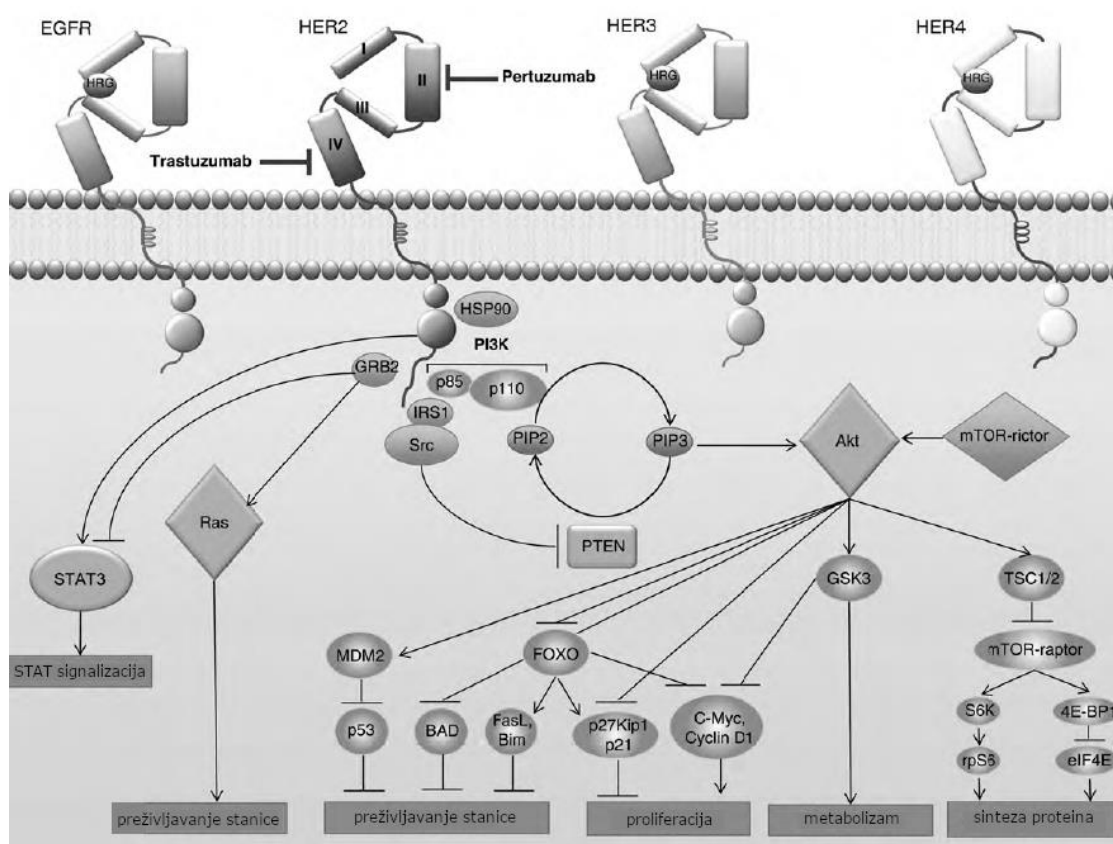
Slika 30. Kompleks HER2-pertuzumab gdje je HER2 označen tirkiznom, laki lanac pertuzumaba plavom i teški lanac zelenom bojom (1S78).⁴¹

2.8.2. Upotreba

Pertuzumab se koristi za liječenje metastatskog HER2 pozitivnog raka dojke (jedan od pet intrinzičnih podtipova temeljenih na ekspresiji gena), obično u kombinaciji s trastuzumabom (herceptin; antitumorski lijek koji također djeluje na HER2 receptore, više u poglavlju 2.11.). Kod bolesnika s HER2+ lokalno uznapredovalim, upalnim rakom dojke ili ranim rakom dojke s visokim rizikom od ponovne pojave primjenjuje se neoadjuvatno liječenje (prije operacije), a kao adjuvatno liječenje kod HER2+ rakom dojke u ranom stadiju. U kombinaciji s trastuzumabom i docetaxelom se koristi kod HER2+ metastatskih ili lokalno recidivirajućih rakova dojke koji nisu prikladni za kirurški zahvat, a nisu bile korištene anti-HER2 lijekovi ili kemoterapija.^{40,42}

2.8.3. *Mehanizam*

Na površini stanica mogu se nalaziti četiri transmembranske tirozin kinaze koje spadaju u ErbB obitelj (EGFR, HER2, HER3, HER4). Svaki od njih ima N-terminalnu izvanstaničnu domenu (četiri domene), transmembranski α -helikalni dio i unutarstaničnu domenu (protein kinazna domena i regulatorna C-terminalna domena). Kako bi se pokrenuo prijenos signala veže se ligand (domena I) što dovodi do konformacijske promjene koja izlaže dimerizacijsku domenu (domena II). Ovisno o ligandu koji je vezan na dimerizacijskog partnera pokreće se signalni put (PI3K/Akt, Ras/MAPK, JAK-STAT; slika 31).^{43,44}



Slika 31. Receptori ErbB obitelji s prikazanim veznim mjestima za pertuzumab i trastuzumab (anti-HER2 lijekovi). Kad se HER3 veže s ligandom na HER2, aktivira se križna fosforilacija tirozin kinazne domene, što aktivira PI3K, Akt i nizvodne molekule poput MDM3, BAD, GSK3 i mTOR. Slika je preuzeta iz ⁴⁴ te obrađena.

HER2 je receptor tirozin kinaze važan u staničnoj diferencijaciji, proliferaciji i preživljavanju. Aktivira se dimerizacijom s nekim od članova HER obitelji. Dimer tada fosforilira i aktivira brojne stanične signalne proteine nizvodno (npr. Erk i Akt). HER2 je onkogen koji se previše

ekspirira kod 20-30% rakova dojke. Kod HER2+ raka dojke prognoze su općenito lošije nego kod HER2- rakova dojke.⁴⁵

Pertuzumab je rekombinantno humanizirano IgG1 monoklonsko antitijelo koje se veže na izvanstaničnu dimerizacijsku domenu (poddomena II) receptora humanog epidermalnog faktora rasta 2 (HER2) čime inhibira heterodimerizaciju receptora HER2 ovisnu o ligandu s drugim članovima obitelji HER receptora.^{44,45} Uz prisutnost heregulina (ligand; HRG) najznačajnija interakcija je HER2/HER3, koji čine najpotentniji dimer. Smatra se da HRG potiče proliferaciju, tumorogenezu i metastazu.⁴³

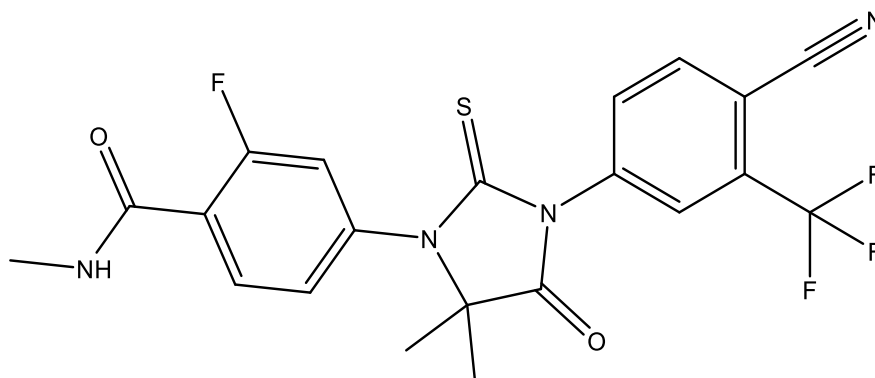
Njegovim vezanjem aktivira se ADCC te dolazi do inhibicije unutarstanične signalizacije potaknute ligandom dvama putovima: mitogen-aktivirane proteinske (MAP) kinaze i fosfatidilinozitol-3-kinaze (PI3K). Inhibicija MAPK dovodi do zaustavljanja rasta stanice, a PI3K do apoptoze.^{40,43,45}

Opaženo je pojačano antitumorsko djelovanje kad se koristi kombinacija pertuzumab i trastuzumab kod tumora s povećanom ekspresijom HER2. Sinergijski učinak se pripisuje njihovim različitim djelovanjima.⁴⁴

2.9. Xtandi (enzalutamide)

2.9.1. Struktura i sinteza

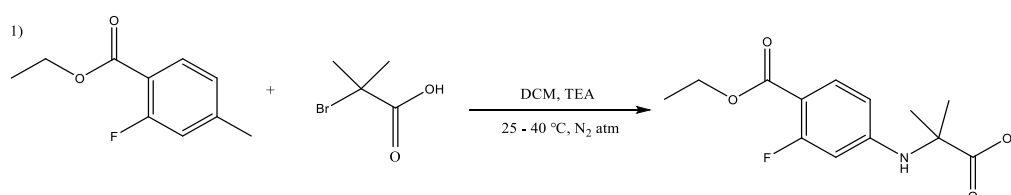
Xtandi je derivat diarilnog tiohidantiona razvijen iz programa kemijske sinteze temeljen na nesteroidnim antiandrogenima prve generacije (flutamide, nilutamide, bicalutamide) i druge generacije (apalutamide, proxalutamide). Svrstava se u imidazolidinone, tiokarbonile, benzamide, nitrile, trifluorometilbenzene i monofluorbenzene. Njegovo ime prema IUPAC-u glasi 4-[3-[4-cijano-3-(trifluorometil)fenil]-5,5-dimetil-4-okso-2-sulfanilidenimidazolidin-1-il]-2-fluor-*N*-metilbenzamid (slika 32).⁴⁶



Slika 32. Struktura xtandija nacrtana programom ChemDraw.

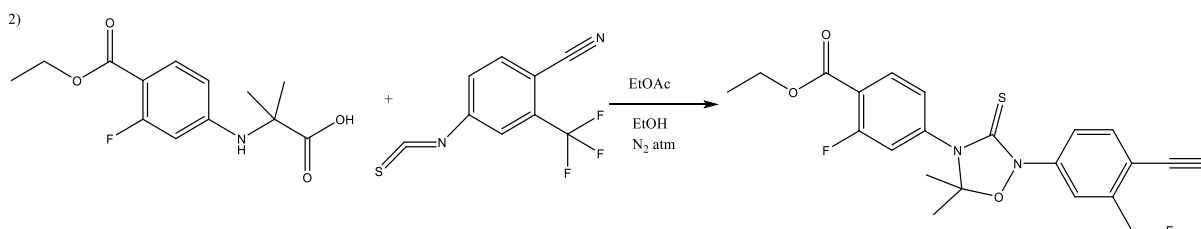
Može se pripraviti na slijedeći način:

- 1) Etil 2-fluor-4-aminobenzoat u atmosferi dušika pomiješa se s bromizobutirnom kiselinom u diklometanu (DCM) te se doda trietilamin (TEA). Reakcijska smjesa se miješa 15 sati na 25 – 40 °C, potom koncentrira pod sniženim tlakom i 40 °C. Miješa se 1 sat i vodeni sloj zakiseli klorovodičnom kiselinom pa miješa još 1 sat. Zatim se hladi do 0 – 5 °C i miješa još 3 sata. Filtrira se i ispere vodom pa suši u vakuumu na 40 °C 6 sati (slika 33).



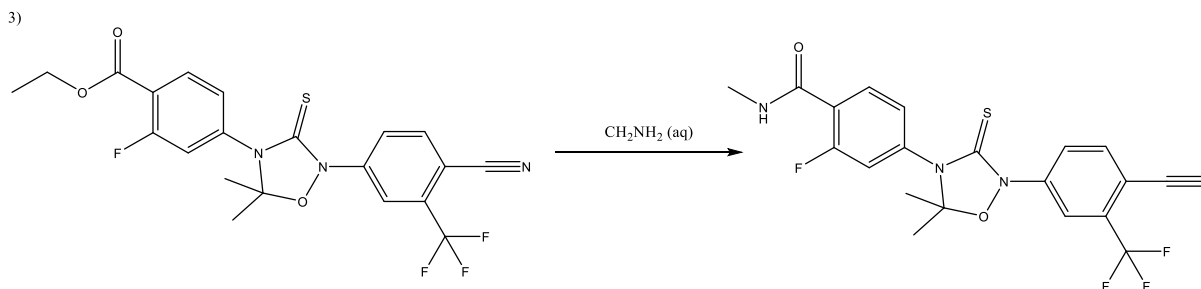
Slika 33. Prvi korak sinteze xatandija nacrtan programom ChemDraw.

- 2) Produktu u atmosferi dušika se doda 4-izotiocijanato-2-(trifluormetil)benzonitril i etil-etanoat (EtOAc), miješa pa doda trietilamin. Zagrijava se uz povratno hladilo 15 minuta i doda 2-(4-etokikarbonil-3-fluoramilin)-2-metilpropanska kiselina. Refluksira se 4-6 sati pa koncentrira pod sniženim tlakom i 50 °C. Doda se etanol pa miješa 1 sat 0 – 5 °C. Dobiveni produkt se filtrira i ispere etanolom pa suši u vakuumu na 40 °C 6 sati (slika 34).



Slika 34. Drugi korak sinteze xatandija nacrtan programom ChemDraw.

- 3) Produktu dobivenom pod 2 dodaje se vodena otopina metilamina i miješa se 5-7 sati. Kad reakcija završi, reakcijska smjesa se koncentrira do 100 mL na sniženom tlaku te se konačan produkt ekstrahira etil-etanoatom (slika 35).⁴⁷



Slika 35. Treći korak sinteze xtandija nacrtan programom ChemDraw.

2.9.2. Upotreba

Xtandi je antiandrogen koji se koristi za liječenje raka prostate. Za liječenje metastatskog hormonski osjetljivog raka prostate (mHSPC) koristi se u kombinaciji s hormonskom terapijom (androgena deprivacija), za liječenje visokorizičnog nemetastatskog raka prostate rezistentnim na kastraciju (CRPC) te metastatskog CRPC-a ako terapija docetaxelom nije bila uspješna ili nije bila primijenjena kemoterapija i hormonska terapija nije djelovala te je bolesnik asimptomatski ili s blagim simptomima.^{48,49}

Koristi se i kao antiandrogen u feminizirajućoj hormonskoj terapiji za transrodne žene.⁴⁸

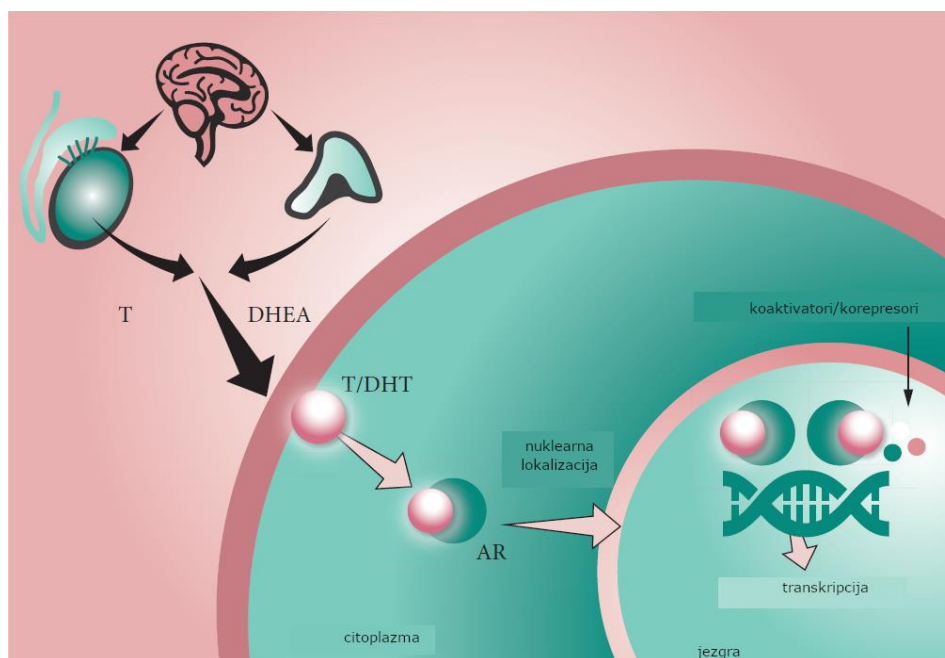
2.9.3. Mehanizam

Rak prostate je osjetljiv na androgene te je česta prevelika ekspresija receptora androgena (AR). Primijećeno je da PIK3/AKT put aktivniji u 30-50% rakova prostate (gubitak fosfataze i funkcije homologa tenzina – PTEN) te potiče razvoj CRPC-a. Gubitak funkcije PTEN-a povećava ekspresiju i signale IL-8 (CXCL8) kod raka prostate i time inhibira apoptozu.

Receptor androgena pripada obitelji steroidnih receptora i sadrži četiri modulatorne domene: N-terminalnu domenu (NTD; regulacija transkripcije), domenu za vezanje DNA (DBD), zglobnu regiju (važna za translokaciju u jezgru) i domenu za vezanje liganda (LBD). Služi za održavanje ravnoteže brzine proliferacije i apoptoze (homeostaza), a reguliran je testosteronom i dihidrotesteronom (DHT; aktivnija forma dobivena iz testosterona uz pomoć 5 α -reduktaze) koji se vežu za LBD i dovode do konformacijske promjene i aktivacije receptora. Nastaje homodimer i dolazi do translokacije u jezgru gdje se veže na element androgenog odgovora te pokreće vezanje kofaktora koji reguliraju transkripciju određenih gena.⁵⁰

Enzalutomide je kompetitivni inhibitor signalizacije putem androgenih receptora (AR).^{48,50,51} Bio je prvi uveden nesteroidni antiandrogen (NSAA) druge generacije.⁴⁸ Vezanjem na LBD AR-a (nema agonistički učinak) sprječava vezanje androgena (poput

testosterona ili DHT-a), ne dolazi do translokacije aktiviranih receptora u jezgru ni vezanja proteinskih koaktivatora na AR niti vezanja aktiviranih AR-ova na DNA, što sprječava daljnju transkripciju tumorskih gena (C-terminalna LBD posreduje aktivaciji transkripcije; slika 36). To dovodi do smanjenja rasta stanica raka prostate, može inducirati apoptozu i dovesti do povlačenja raka. No djelotvoran je samo neko vrijeme, dolazi do rezistencije na ovaj antiandrogen.⁵⁰ Otkriveni mehanizmi rezistencije su: prevelika ekspresija AR-a, mutacije AR-a, splice varijante AR-a (AR-V7), zaobilaženje glukokortikoidnih receptora, rezistencija posredovana autofagijom i rezistencija posredovana IL-6, povećanje fluksa u glikolizi, aktivacija signalnog puta Wnt i povećanje intratumorske sinteze androgena posredovano AKR1C3 enzimom.⁴⁸



Slika 36. Trojni mehanizam djelovanja enzalutamida. Slika je preuzeta iz⁵⁰ te obrađena.

Većinom ga metaboliziraju citokromni P450 enzimi CYP2C8 i CYP3A4 enzimi. Primijećeno je da je ezalutomide snažan induktor CYP3A4 (oksidacija ksenobiotika) i umjeren za CYP2C9 i CYP2C19, čime utječe na koncentracije lijekova koje ovi enzimi metaboliziraju.

Enzalutamide ima dva puta niži afinitet vezanja na AR nego DHT,⁴⁸ ali pet do osam puta viši nego bicalutamide (nesteroidni antiandrogen prve generacije). Stoga je potentniji i učinkovitiji nego NSAA-ovi prve generacije.⁵⁰

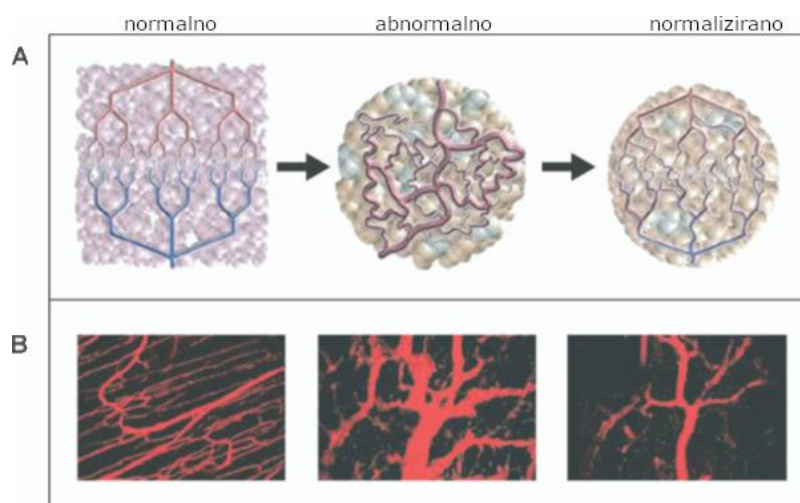
2.10. Avastin (bevacizumab)

2.10.1. Mehanizam

Avastin je rekombinantno humanizirano IgG1 monoklonsko antitijelo koje se veže na krvožilni/vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF) – glikoprotein koji stimulira angiogenezu.

U uvjetima kad nema dovoljno kisika (hipoksija) inducibilni faktor hipoksije (HIF) veže se na regiju hipoksijskog odgovora unutar *VEGF* gena čime pokreće njegovu transkripciju. Vezanje VEGF-a na receptore VEGF (VEGFR-1 i VEGFR-2) na endotelnim stanicama pokreće nekoliko mehanizama. VEGF se može vezati i za koreceptore neuropiline (NRP-1 i NRP-2) što dovodi do poboljšanja prijenosa signala. VEGF je važan u prijenosu signala za angiogenezu, limfangiogenezu, regulaciju krvnog tlaka, koagulaciju, bubrežnu filtraciju i zacjeljivanje rana. U hipoksičnim uvjetima preživljavaju agresivnije tumorske stanice koje otpuštaju VEGF i dovode do nastajanja abnormalne i neorganizirane krvožilne mreže (slika 37). Tumorska angiogeneza osigurava preživljavanje i proliferaciju endotelnih stanica, veću migraciju i invaziju endotelnih stanica (jer mijenja staničnu adheziju i povećava ekspresiju izvanstanični proteaza) i povećava propusnost postojećih žila.⁵²⁻⁵⁴ Osim uvjeta hipoksije VEGF može biti previše eksprimiran zbog aktivacije onkogeno poput *src*, *ras*, *p53*, *vhl* i *fos*, aktivnosti hormona i citokina, poput estrogena, androgena, liganada epidermalnog faktora rasta i faktora rasta sličan inzulinu 1 (IGF-1).

Avastin sprječava vezanje VEGF na odgovarajuće receptore (i na normalnim i tumorskim stanicama) i neutralizira njegovu aktivnost. Na taj način se inhibira razvoj novih krvnih žila, dolazi do regresije novonastalih krvnih žila, normalizira se krvožilna mreža (poboljšava se dostava citotoksičnih lijekova), a time se smanjuje opskrba tumora potrebnim tvarima i smanjuje mogućnost metastaze.⁵³



Slika 37. Krvožilna mreža koja nastaje angiogenezom (lijevo), tumorskom angiogenezom (sredina) i postaje nakon antiangiogenetske terapije avastinom (desno). A je ilustracija morfoloških karakteristika, a B fluorescentna slika. Slika je preuzeta iz ⁵⁵ te obrađena.

2.10.2. Upotreba

Avastin se koristi za liječenje karcinoma kolona ili rektuma (CRC; u kombinaciji s kemoterapijom na bazi fluoropirimidina), metastatskog karcinoma dojke (MBC; u kombinaciji s paclitaxelom ili kapecitabinom), karcinoma pluća nemalih stanica u kojima prevladavaju skvamozne stanice (NSCLC; u kombinaciji s lijekovima na bazi spojeva platine), NSCLC-a s aktivirajućim mutacijama EGFR (u kombinaciji s erlotinibom), raka bubrežnih stanica (u kombinaciji s interferonom α -2a), epitelnog karcinoma jajnika*, karcinoma jajovoda* i primarnog peritonealnog karcinoma* (*ovisno o stanju koriste se različite kombinacije), raka vrata maternice (u kombinaciji s paclitaxelom i cisplatinom ili paclitaxelom i topotekanom), glioblastoma, senilne makularne degeneracije (AMD) i dijabetičke neuropatije (DED).^{53,56}

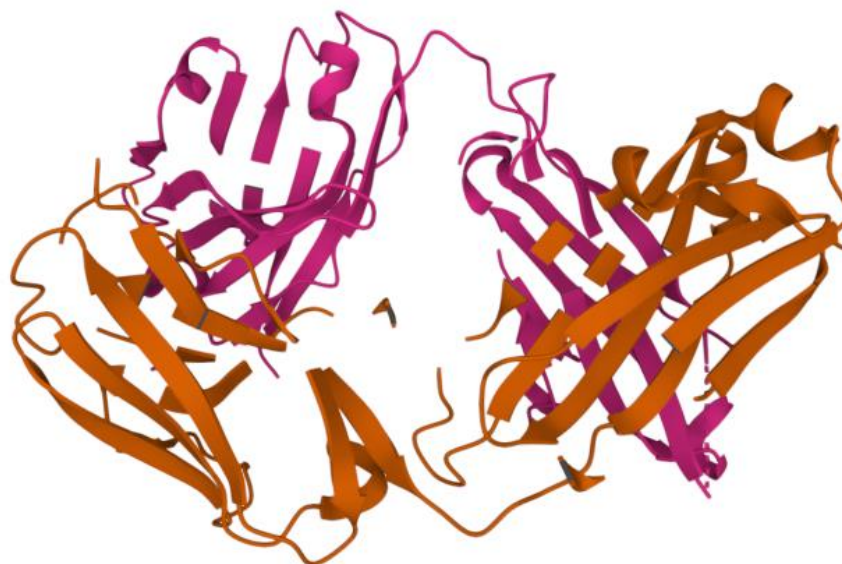
Opaženo je da COVID-19 pacijenti imaju višu ekspresiju VEGF što može doprinijeti sindromu akutnog respiratornog distresa (ARDS) i akutnoj ozljedi pluća (ALI). Stoga se bevacizumab razmatra za liječenje plućnih komplikacija povezanih s teškim slučajevima COVID-19.⁵³

2.10.3. Struktura

Bevacizumab je monoklonsko antitijelo te se sastoji od lakog i teškog lanca (slika 38). Njegov laki lanac sadrži 2 3_{10} zavojnice, 2 α -zavojnice, 4 izolirana β -mosta, 2 disulfidne veze, 19 β -

lanaca, 2 okreta tipa I, 2 okreta tipa I', 3 okreta tipa II, okret tipa II', 9 okreta tipa IV i 4 okreta tipa VIII.

Teški lanac sadrži 6 3_{10} zavojnica, 5 izoliranih β -mostova, 2 disulfidne veze, 19 β -lanaca, 4 okreta tipa I, okret tipa I', 4 okreta tipa II, okret tipa II', 5 okreta tipa IV i 3 okreta tipa VIII.¹²



Slika 38. Mjesto za vezanje antigena avastina s lakim lancem označenim narančasto i teškim lancem označenim ljubičasto (7V5N).⁵⁷

2.11. Herceptin (trastuzumab)

2.11.1. Upotreba

Povećana ekspresija HER2 uočena je u 20-30% karcinoma dojke.^{58,59} HER2 može biti i do 100 puta više ekspimiran nego što je to u normalnim stanicama (za usporedbu: 2 milijuna naspram 20 000 po stanici).⁶⁰ Kod takvih slučajeva tumori brže rastu i šire se te je općenito prognoza lošija nego za HER 2 negativne tumore.^{61,62}

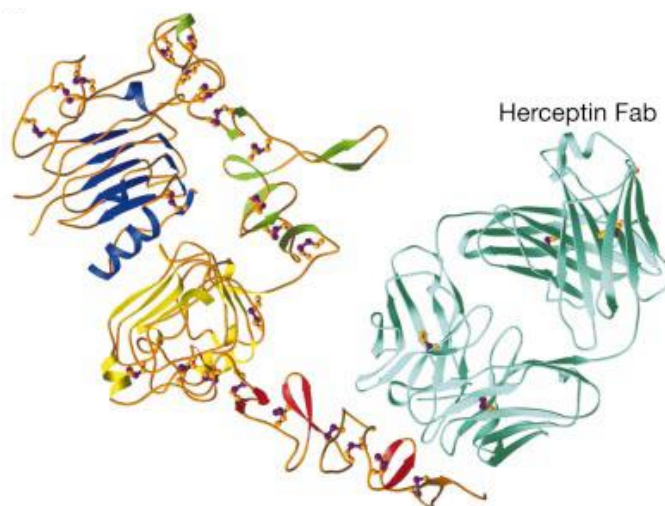
Trastuzumab se koristi za liječenje HER2-pozitivnog raka dojke kao adjuvatna terapija (u kombinaciji s antraciklinom ili taxanom), metastatskog HER2 pozitivnog raka dojke (kao monoterapija ili u kombinaciji s paclitaxelom) i HER2-pozitivnog raka gastroezofaringealnog spoja ili metastatskim adenokarcinomom želuca (u kombinaciji s terapijom temeljenoj na cisplatinu).^{53,59,63}

Lijek ne može prijeći krvno-moždanu barijeru, stoga ne djeluje na tumore koji su metastazirali na mozak.²

Korištenje tijekom trudnoće može oštetiti fetus.^{58,59-60}

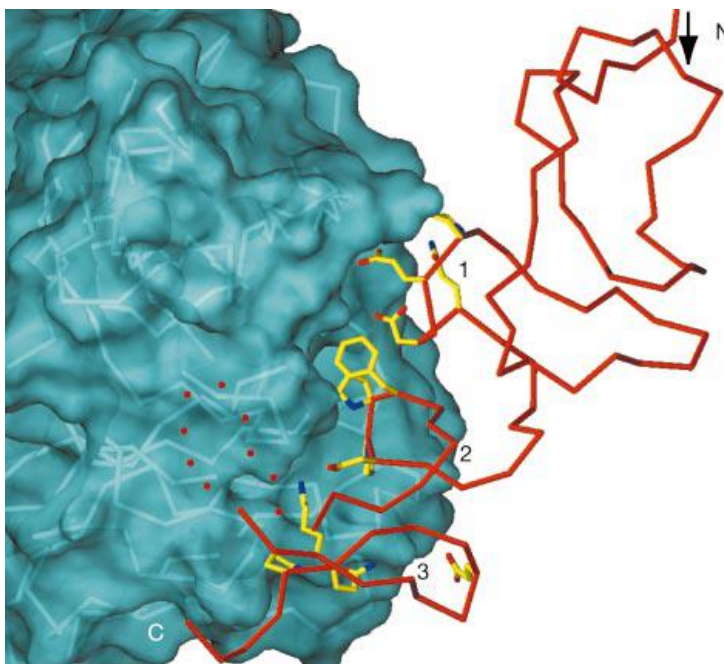
2.11.2. Struktura

HER2 je član EGF-R obitelji receptora tirozin kinaza (ErbB ili HER) zaslužnih za proliferaciju i diferencijaciju stanica. Sastoji se od izvanstanične domene za vezanje liganda (sastavljena od četiri poddomene), transmembranske domene i unutarstanične domene (tirozin kinazna aktivnost).^{58,60,61} Trastuzumab se veže na C-terminalni dio poddomene IV (petlja II) jukstamembranske regije izvanstanične domene (slika 39).^{61,64}



Slika 39. Herceptin Fab (svijetlo plavo) u kompleksu s HER2 s domenama označenim različitim bojama. Domena I plava, II zelena, III žuta i IV crvena. Disulfidne veze su označene ljubičastom i zlatnom. Slika je dobivena korištenjem programa Ribbons.⁶⁴

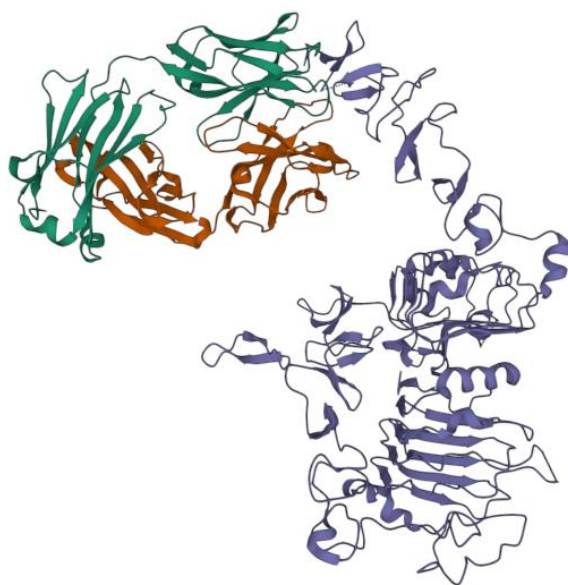
Interakcija se ostvaruje s tri petlje HER2: zahvaljujući bočnim ograncima 557-561, 570-573 i 593-603. Prva i treća petlja većinom djeluju elektrostatskom silom, a druga hidrofobnom koji ostvaruje s džepom kojeg čine CDR-ovi antitijela (slika 40).⁶⁴



Slika 40. Vezno mjesto herceptina (Fab – svijetlo plavo) na HER2 (crveno). Posebno su prikazani bočni ogranci te tri petlje HER2 koje sudjeluju u interakciji. Označeni su C- i N-kraj te dio petlje koja se ne vidi (crvene točke). Slika je izrađena programom SPOCK.⁶⁴

Fab teškog lanca sadrži: 7 3_{10} zavojnice, 2 disulfidne veze, 4 β -izolirana mosta, 19 β -lanaca, 4 okreta tipa I, 5 okreta tipa II, okret tipa II', 6 okreta tipa IV i 2 okreta VIII.

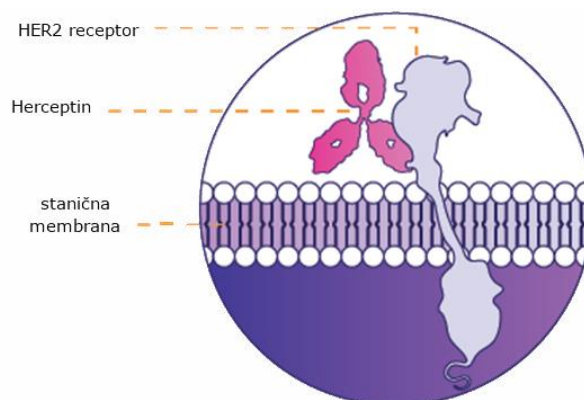
Laki lanac se sastoji od: 2 3_{10} zavojnice, 2 α -zavojnice, 2 disulfidne veze, 4 β -izolirana mosta, 18 β -lanaca, 3 okreta tipa I, 4 okreta tipa II, okret tipa II', 11 okreta tipa IV i 3 okreta VIII (slika 41).¹²



Slika 41. Izvanstanična domena ljudskog HER2 u kompleksu s mjestom za vezanje antigena (Fab) herceptina. HER2 je prikazan plavom, laki lanac zelenom i teški lanac smeđom bojom (1N8Z).⁶⁵

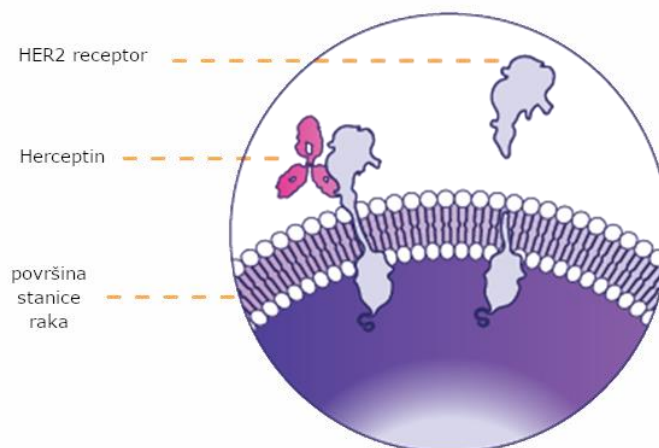
2.11.3. Mehanizam

Trastuzumab je rekombinantno humanizirano IgG1 monoklonsko antitijelo koje se veže na receptor epidermalnog faktora rasta 2 (HER2; pri tome ne sprječava dimerizaciju s HER3) čiji gen je proto-onkogen (slika 42).^{58,59}



Slika 42. Trastuzumab je monoklonsko antitijelo koje se veže na HER2 receptore koji su prisutni i na normalnim stanicama i na HER2+ tumorskim stanicama, a važni su za prijenos signala i proliferaciju. Slika je preuzeta iz⁶² te obrađena.

Veže se na poddomenu IV izvanstanične domene i tako sterički ometa aktivaciju HER2 (ne može doći do cijepanja pri čemu se onda herceptin veže na serumski HER2 ili proteolitičkog cijepanja izvanstanične domene pri kojem nastaje p95HER2 – krnji HER2 koji ima veću sposobnost unakrsne fosforilacije s ostalim receptorima HER obitelji i stanične signalizacije) te interakcije između HER2 i drugih proteina (slika 43).^{61,64}



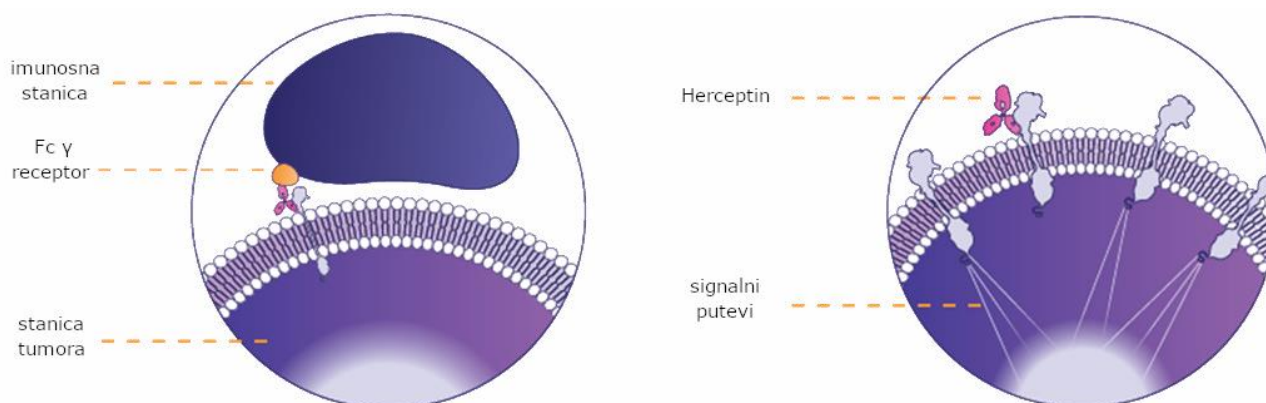
Slika 43. Herceptin vezanjem na izvanstaničnu domenu sprječava njeno cijepanje i nastajanje p95HER2. Slika je preuzeta iz⁶² te obrađena.

Inhibira HER2 signalni put (omogućuju proliferaciju i angiogenezu) koji je neovisan o ligandu. Represijom proangiogenetskih faktora i indukcijom antiangiogenetskih faktora također ima antiangiogenetsko djelovanje.

HER2 se aktivira stvaranjem homo ili heterodimera tako što dolazi do auto/transfosforilacije bočnih ogranaka tirozina u unutarstaničnim domenama EGFR. To pokreće putove: MAPK (protein kinaza aktivirana mitogenom), PI3K/Akt (fosfatidilinozitol-3-kinaza; koji uz MAPK pokreće NF- κ B put), STAT (prenositelj signala i aktivator transkripcije), fosfolipaza C- γ i protein kinaza C (PKC), ali dovodi i do brze razgradnje inhibitora staničnog ciklusa p27 kip1(CDKI).

Trastuzumab dovodi do ubikvitinacije HER2 i njegove razgradnje (ali nije poznat točan mehanizam), no ne utječe na njegovu ekspresiju.⁶¹ Razgradnju pak stanica s previše eksprimiranim HER2 osigurava pomoću citotoksičnosti ovisne o antitijelima (ADCC), a ometanjem dimerizacije potiskuje prijenos signala PI3K/Akt i MAPK putem – dovodi do smanjenja staničnog rasta i preživljavanja (slika 44 i 45).⁶⁶ Osim toga blokiranjem HER2 signalizacije povećava se broj reaktivnih kisikovih vrsta, a trastuzumab inhibira popravak

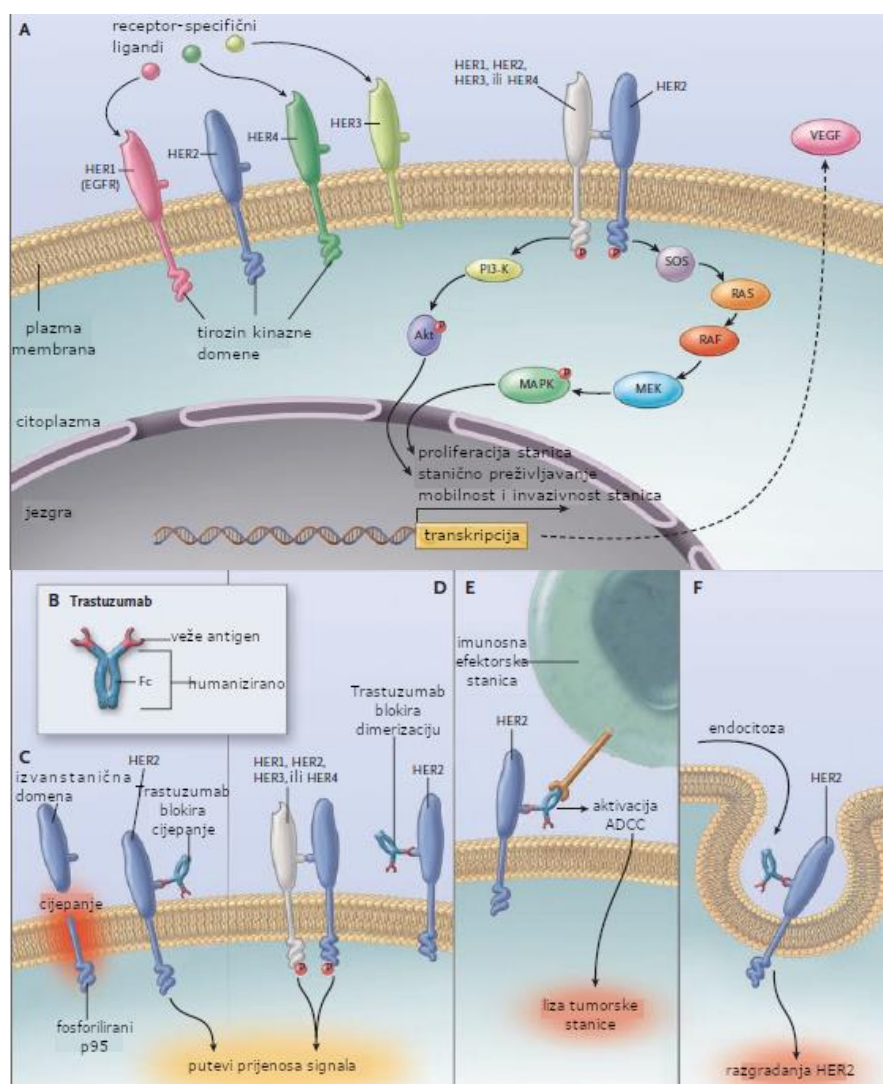
DNA. Zaustavlja stanični ciklus osiguravanjem dovoljno p21 waf1 i p27 kip1 (uz smanjenu koncentraciju dolazi do rezistencije), a potiskivanjem djelovanja CDK2.⁶¹



Slika 44. Vežanje herceptina na HER2 pokreće se ADCC – aktiviraju se NK stanice koje se Fc γ receptorom vežu na Fc fragment herceptina (lijevo). Inhibira međustanične signalne puteve, njihovim utišavanjem dovodi do apoptoze i zaustavlja staničnu proliferaciju (desno).

Slika je preuzeta iz ⁶² te obrađena.

Osim primjene u kombinaciji s pertuzumabom i docetaxelom, pročava se i antitijelo-lijek konjugat trastuzumab emtansine (T-DM1).⁴⁴



Slika 45. Prijenos signala HER obitelji i mehanizam djelovanja trastuzumaba. Na HER1, HER3 i HER4 se vežu ligandi visokim afinitetom. HER receptori najradije dimeriziraju s HER2. Fosforilacija bočnog ogranka Tyr aktivira PI3K, koja fosforilira fosfatidilinozitol. Fosfatidilinozitol se potom veže i fosforilira Akt. Za to vrijeme faktor izmjene nukleotida gvanina (SOS) aktivira RAS koji onda aktivira receptor aktivacijskog faktora (RAF), MAPK i MEK (kinaza MAPK-a). Jedna od posljedica je sinteza VEGF-a. Na sličicama označenim B do F prikazani su potencijalni mehanizmi djelovanja trastuzumaba. Cijepanje izvanstanične domene HER2 ostavlja fosforilirani p95 vezan na membranu, a koji može aktivirati prijenos signala (B). Vezanjem trastuzumaba na jukstamembransku regiju HER2 sprječava cijepanje da nastane p95 (C). Inhibicijom homodimerizacije ili heterodimerizacije, može smanjiti HER2 signalizaciju (D). Aktivacijom ADCC može dovesti do smrti stanice (E). Može doći do razgradnje HER2 receptora endocitozom (F). Slika je preuzeta iz ⁶⁷ te obrađena.

2.12. Gazyva (obinutuzumab)

2.12.1. Upotreba

Gazyva je monoklonsko antitijelo koje se koristi kao prva crta liječenja za kroničnu limfocitnu leukemiju (CLL) u kombinaciji s chlorambucilom, za folikularni limfom (FL; neliječeno) u kombinaciji s kemoterapijom ili kod recidiva FL-a bendamustineom (nakon terapije koja je uključivala rituximab te nije postigla željeni učinak).^{68,69}

Može oštetiti fetus te dovesti do deplecije B stanica,^{69,70} ali i utjecati na (ne)plodnost.⁷¹ Izdano je upozorenje crne kutije o reaktivaciji fatalnog virusa hepatitisa B (HBV) i progresivne multifokalne leukoencefalopatije (PML).⁷⁰

2.12.2. Struktura

Teški lanac sadrži 4 3_{10} zavojnice, 2 disulfidne veze, 3 β -izolirana mosta, 19 β -lanaca, 9 okreta tipa I, 3 okreta tipa II, 8 okreta tipa IV i 3 okreta tipa VIII.

Laki lanac sadrži 2 α -zavojnice, 2 disulfidne veze, γ inverzni okret, 4 izolirana β -mosta, 19 β -lanaca, 3 okreta tipa I, 2 okreta tipa I', 3 okreta tipa II, 9 okreta tipa IV i 3 okreta tipa VIII (slika 46).¹²

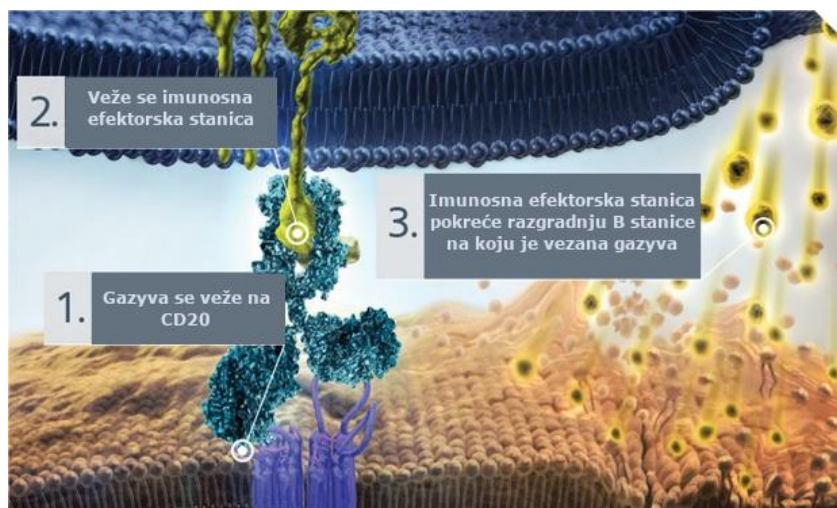


Slika 46. Mjesto za vezanje antigena (Fab) gazyve i vezani CD20 (zeleno i narančasto). Teški lanac Fab-a je prikazan plavom, a laki lanac ljubičastom bojom (6Y9A).⁷²

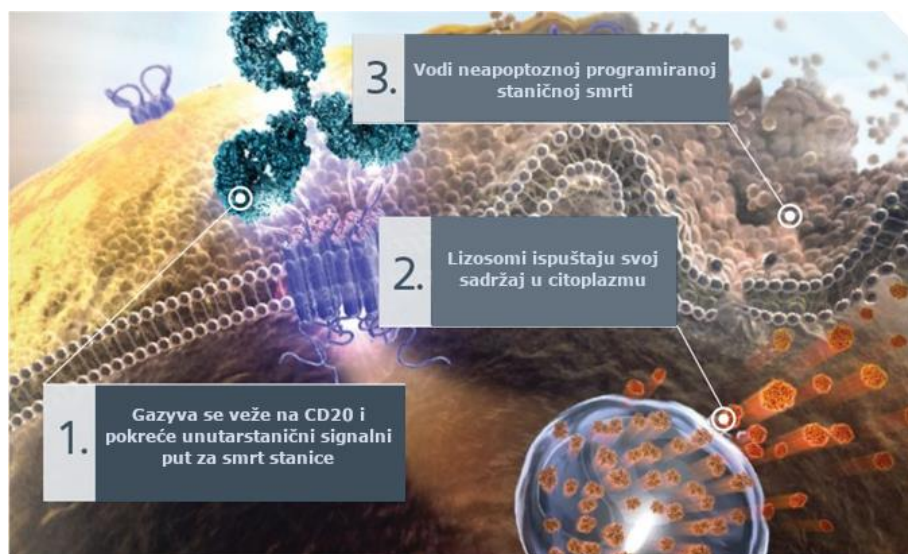
2.12.3. Mehanizam

Obinutuzumab je humanizirano i glikoinženjeringom modificirano rekombinantno IgG1 monoklonsko antitijelo tipa II^{69,73} koje se veže na izvanstaničnu petlju transmembranskog proteina CD20.⁶⁹ Veže obje Fab ruke na CD20 tetramer.⁷³ To se pokazalo kao učinkovita meta s obzirom da je CD20 previše eksprimiran u nekim stanicama raka (nađen u 95% rakova B stanica⁷⁴) iako obinutuzumab djeluje i na zdrave stanice.

Glikoinženjering se odnosi na molekule šećera na kristalizacijskoj regiji (Fc) antitijela koja služi za vezanje imunskih stanica koje mogu ubiti B stanicu na koju je vezano antitijelo. Obinutuzumab je bio prva tvar na kojoj je primijenjeno glikoinženjerstvo odobrena u SAD-u i EU-u.⁷⁵ Stanica u kojoj se sintetizira obinutuzumab je modificirana tako da eksprimira previše MGAT3 i manozidaze 2 (glikozilacijski enzimi) koji smanjuju količinu fukoze koja je vezana na antitijelo. Takva modifikacija rezultira većim afinitetom Fc dijela za vezanje na FcγRIII receptore na efektorским stanicama imunološkog sustava (npr. NK stanice, monociti, makrofagi; slika 47).⁷⁴ To posreduje većoj staničnoj citotoksičnosti ovisnoj o antitijelima (ADCC) i fagocitozi ovisnoj o antitijelima (ADCP). Doprinosi i aktivaciji kaskadi komplementa, ali manje doprinosi citotoksičnosti ovisnoj o komplementu (CDC).^{73,74}



Slika 47. Vezanjem efektorne imunološke stanice na Fc regiju antitijela dolazi do njegove aktivacije i uništenja B stanice vezane na antitijelo. Slika je preuzeta iz ⁶⁸ te obrađena.



Slika 48. Aktivacija unutarstaničnog signalnog puta za smrt stanice dovodi do ispuštanja sadržaja lizosoma te neapoptozne smrti stanice. Slika je preuzeta iz ⁶⁸ te obrađena.

Primijećeno je i izravno aktivira unutarstanične signalne puteve neovisne o kaspazama za staničnu smrt i to jače neko antitijela tipa I (npr. rituximab). To se postiže homotipskom adhezijom, lizosomskim otpuštanjem katepsina (slika 48) i nastajanjem reaktivnih kisikovih vrsta.⁷³

2.13. Jakafi (ruxolitinib)

2.13.1. Upotreba

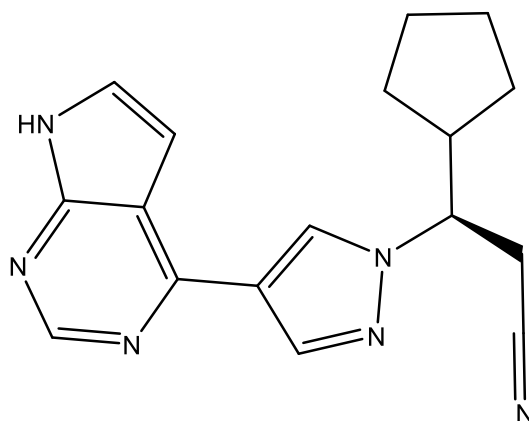
Jakafi/jakavi je inhibitor Janus kinaza i koristi se za liječenje splenomegalije povezane s mijelofibrozom, simptoma primarne mijelofibroze (MF), mijelofibroze nakon policitemije vera ili nakon esencijalne trombocitopenije. Koristi se i za liječenje policitemije vere kod bolesnika koji ne podnose ili su rezistentni na hidroksiureju te akutne bolesti presatka protiv primatelja (GVHD) ili kronične GVHD, a čiji pacijenti ne reagiraju na kortkosteroide ili druge sistemske terapije.⁷⁶⁻⁷⁹

U SAD-u krema se primjenjuje za lokalno liječenje atopičnog dermatitisa i vitiliga.^{76,77} Istražuje se za potencijalno liječenje alopecije areate, jednog oblika psorijaze (plaque psoriasis), perifernog limfoma T stanica i difuznog limfoma velikih T stanica, a nedavno se istraživao i kao potencijalni lijek za COVID-19 s hiperupalom (u III fazi kliničkog testiranja nije smanjio broj hospitaliziranih te nije odobren za liječenje).⁷⁶

2.13.2. Struktura

Jakafi u svojoj strukturi sadrži pirolpirimidinski, ciklopentanski i pirazolni prsten te nitrilni supstituent. Pripada pirolpirimidinima, pirazolima te nitrilima. Obično se primjenjuje u obliku fosfata.

Prema IUPAC-ovoj nomenklaturi naziva se (3*R*)-3-ciklopentanyl-3-[4-(7*H*-pirol[2,3-*d*]pirimidin-4-il)pirazol-1-il]propanitril (slika 50).⁷⁸



Slika 50. Struktura jakafija s prikazanom stereokemijom, nacrtano u programu ChemDraw.

2.13.3. Mehanizam

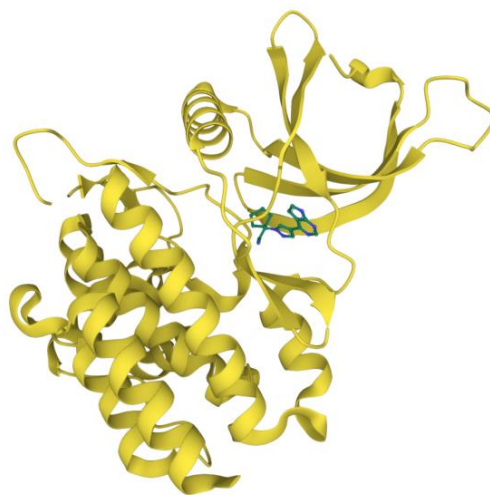
Obitelj Janus kinaza čine JAK1, JAK2, JAK3 i nереceptorska tirozin kinaza 2 (TYK2), a imaju razne zadaće. Jedna od njih je ključna uloga u unutarstaničnim signalnim putevima raznih faktora rasta i citokina potrebnih za hematopoezu (poput interleukina, eritropoetina, trombopoetina). JAK1 i JAK3 potiču diferencijaciju, preživljavanje i funkciju limfocita, a JAK2 i TYK2 potiču prijenos signala eritropoetina i trombopoetina. JAK-ovi se nalaze blizu citoplazmatske regije citokina i faktora rasta, vezanjem na njih se aktiviraju. Dolazi do unakrsne fosforilacije i fosforilacije tirozina, što otvara vezna mjesta za prenositelje signala i aktivatore transkripcije (STAT; važan za proliferaciju, rast, hematopoezu i imunski odgovor). Translokacijom aktiviranih JAK-ova i STAT-ova u jezgru pokreće se transkripcija upalnih citokina poput IL-6, IL-10 i NF-κB.^{76,78}

Kod MF i PV disregulirana je signalizacija JAK1 i JAK2, vjerojatno zbog previše sintetiziranih citokina koji aktiviraju put JAK-STAT, zbog mutacije dobivanja nove funkcije^{76,78,79} (npr. JAK2V617F se nalazi u >95% bolesnika s PV-om⁷⁹ i oko 50% bolesnika s MF^{76,78}) i gušenje negativnih mehanizama regulacije.

Ruxolitinib je imunomodulator i selektivni kompetitivni inhibitor JAK1 (regulira IL-2, IL-6 i TNF- α) i JAK2 (ključan za stanične funkcije poput proliferacije i diferencijacije)^{76,78} koji se veže na katalitičko mjesto za vezanje ATP-a čime remeti signalne puteve citokina i faktora rasta (slika 51).⁷⁶⁻⁷⁸

To dovodi do smanjene sinteze kemokina i upalnih citokina, a potom inhibicije stanične proliferacije i konačno vodi smrti stanice.⁷⁷

Inhibira fosforilaciju (aktivaciju) STAT3 koji je važan za onkogenezu. Također, inhibira divlji i mutirani tip JAK2, ali primijećeno je da JAK2V617F oslabljuje osjetljivost na ruxolitinib što može dovesti do pojave rezistencije.^{76,78,79}



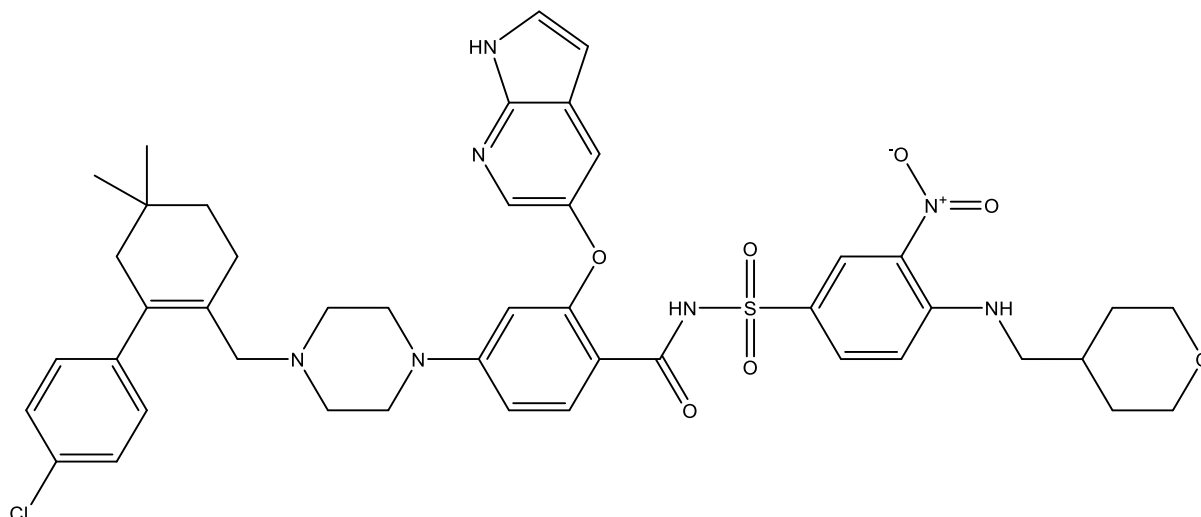
Slika 51. Kompleks JAK2 JH1 (žuto) i ruxolitiniba, gdje je ugljik prikazan zelenom, dušik plavom i kisik crvenom bojom (6VGL).⁸⁰

2.14. Venclexta (venetoclax)

2.14.1. Struktura

Venclexta se sastoji od tri benzenska prstena s različitim supstituentima, pirolpirimidina, oksana, cikloheksena i piperazina. Zahvaljujući tome može se svrstati u nekoliko skupina: nitrobenzeni, monoklorbenzeni, N-sulfonilkarboksamidi, pirolpirimidini, oksani, aromatski eteri, N-arilpiperazini i N-alkilpiperazini.

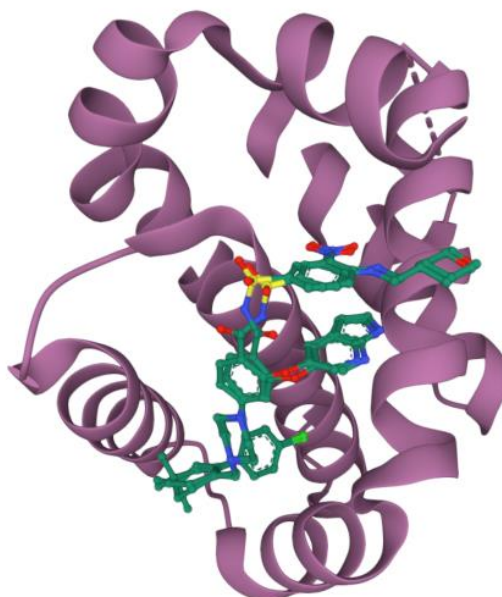
Njegovo ime prema IUPAC-u glasi 4-[4-[[2-(4-klorfenil)-4,4-dimethylcikloheksen-1-il]metil]piperazin-1-il]-N-[3-nitro-4-(oksan-4-ilmetilamin)fenil]sulfonil-2-(1*H*-pirol[2,3-*b*]piridin-5-iloksi)benzamid (slika 52).⁸¹



Slika 52. Struktura venetoclaxa nacrtana programom ChemDraw.

2.14.2. Upotreba

Venetoclax je snažan, selektivan inhibitor antiapoptotskog proteina B-staničnog limfoma 2 (BCL-2; slika 53) razvijen obrnutim inženjeringom navitoclaxa (inhibitor obitelji proteina BCL-2). Pokazao se deset puta učinkovitijim u indukciji apoptoze u usporedbi s navitoclaxom te ne uzrokuje trombocitopeniju.^{81,82}



Slika 53. Kristalna struktura BCL-2 s venetoclaxom (ljubičasto; 6O0K). Ugljik je prikazan tamno zeleno, kisik crvenom, sumpor žutom, dušik plavom i klor zeleno.⁸³

Koristi se kao monoterapija za liječenje malog limfocitnog limfoma (SLL) ili kronične limfocitne leukemije (CLL) kod pacijenata koji nisu reagirali na kemoterapiju ni liječenje inhibitorom signalnih puteva B-staničnih receptora, pacijenata s delecijom 17p ili mutacijom gena TP53, a nisu prikladni ili nisu reagirali na liječenje inhibitorom signalnih puteva B-staničnih receptora.

U kombinaciji s obinututumabom koristi se za liječenje CLL pacijenata koji nisu prethodno liječeni te u kombinaciji s rituximabom za liječenje CLL pacijenata koji su primili barem jednu terapiju.

Za liječenje novodijagnosticirane akutne mijeloične leukemije (AML) pacijenata koji nisu prikladni za intenzivnu kemoterapiju primjenjuje se u kombinaciji s hipometilirajućim lijekom. Trudnice ga ne smiju koristiti jer je dokazana embriofetalna toksičnost (na životinjama). Pokazao se snažnim imunosupresivom te može do reaktivacije hepatitisa B.⁸⁴

2.14.3. *Mehanizam*

Proteini BCL-2 obitelji su važni regulatori apoptoze čija je ekspresija povećana u stanicama CLL-a i AML-a. Osim što inhibiraju apoptozu povezani su i s pojavom rezistencije na kemoterapeutske lijekove.^{81,82}

Venetoclax je BH3-mimetik te se veže na džep BCL-2 koji inače veže BH3 motiv istiskujući proapoptotske proteine koji imaju taj motiv (npr. BIM). BH3 motiv čini amfipatska α -zavojnica koja interagira s hidrofobnim džepom obitelji BCL-2 proteina te doprinosi apoptoznoj aktivnosti.

To dovodi do permeabilizacije vanjske membrane mitohondija, aktivacije kaspaza i apoptoze. Uočena je i citotoksična aktivnost.^{81,82,84}

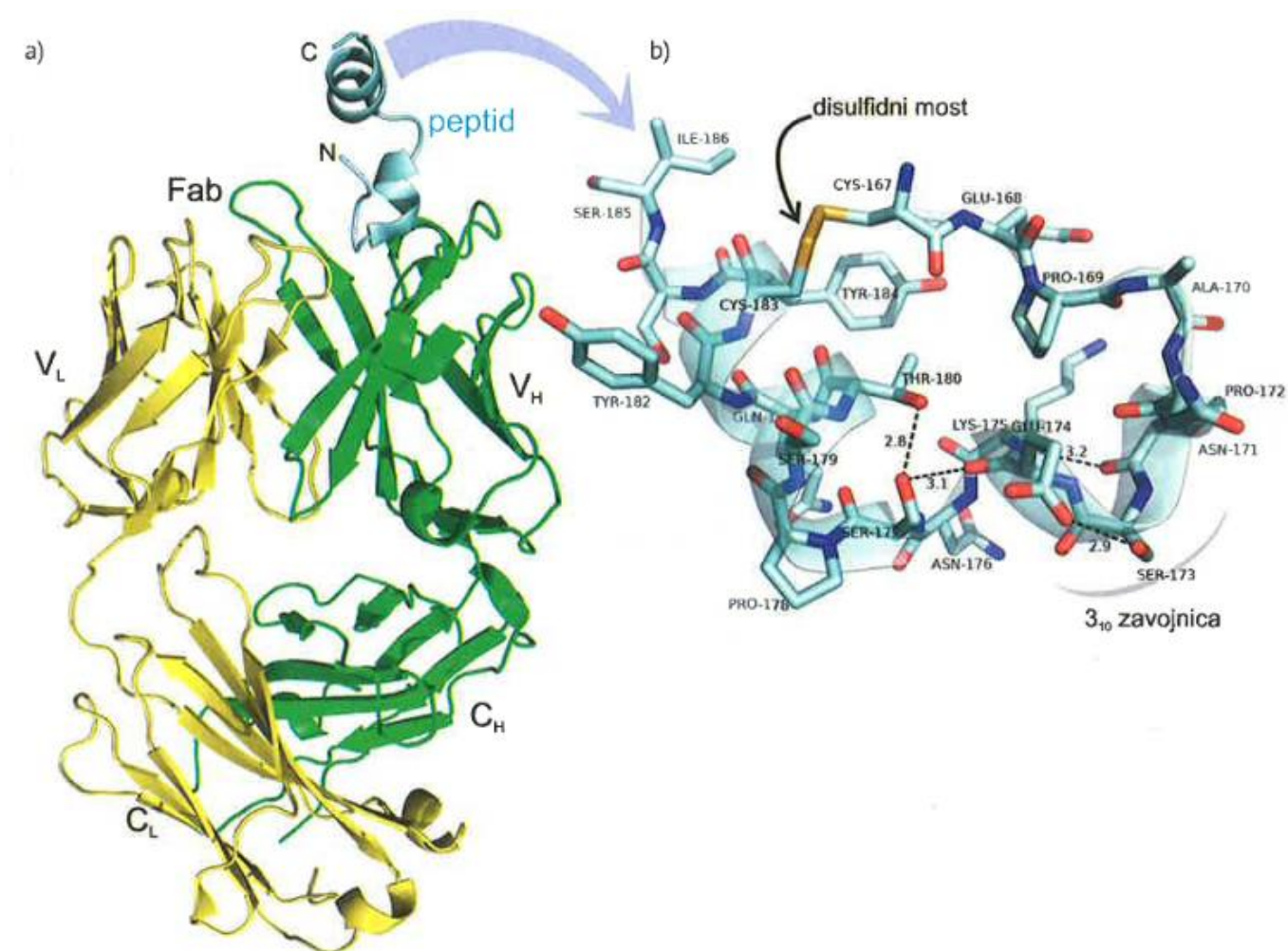
2.15. Rituxan (rituximab)

2.15.1. *Upotreba*

Rituxan je himerno mišje/humanizirano monoklonsko antitijelo koji pomaže u razaranju B stanica te se prvenstveno koristi za liječenje bolesti kod kojih su B stanice preaktivne ili disfunkcionalne, kao što su ne-Hodgkinov limfom, limfoidne leukemije, kronična limfocitna leukemija (CLL), odbacivanja transplantanata i autoimune bolesti.¹

2.15.2. Struktura

Rituximab je himerno IgG1 monoklonsko antitijelo koje se sastoji od humanog κ -konstantnog područja, humanog kristalizabilnog dijela (Fc) i mišje varijabilne regije koja prepoznaje humani CD20 protein (slika 54).⁸⁵



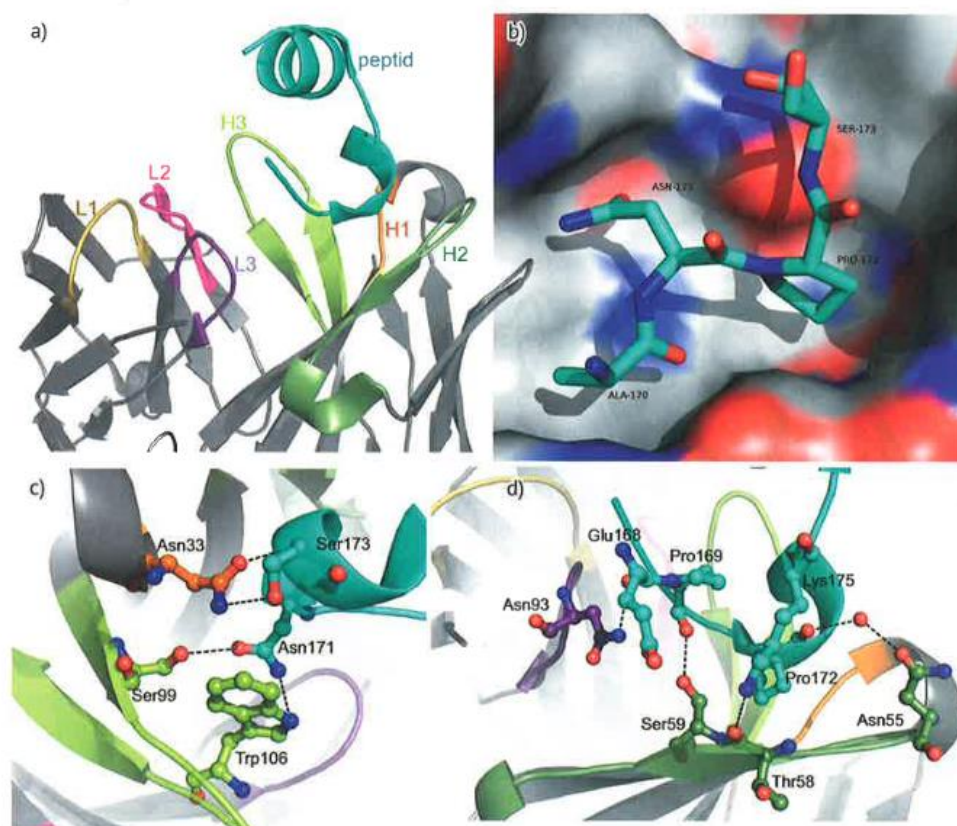
Slika 54. Struktura mjesta za vezanje antigena (Fab) rituximaba u kompleksu s epitopnim peptidom CD20, gdje je teški lanac rituximaba obojan zeleno, laki lanac žuto, a peptidni epitop svijetloplavo(a). Detaljniji prikaz epitopnog peptide koji se sastoji od N-terminalne petlje, 3₁₀ zavojnica, male petlje i kratke C-terminalne α -zavojnice. Neke od vodikovih veza označene su iscrtkano. Disulfidni most između Cys167 i Cys183 dodatno stabilizira vrlo kratak peptid središnjeg dijela (3₁₀ zavojnica i mala petlja).¹

Mjesto vezanja antigena (Fab) čine četiri dijela koja zajedno čine džep u koji se smješta epitop antigena. Oblikuju četiri regije koje određuju komplementarnost (CDRs). Vodikovim vezama i van der Waalsovima interakcijama prepoznaju specifično područje epitopa

(¹⁷⁰ANPS¹⁷³; slika 55). Potom epitopni peptid poprima cikličku konformaciju koju stabilizira disulfidna veza, a ograničava bočni ogranak prolina, što je važno za vezanje rituxana.¹

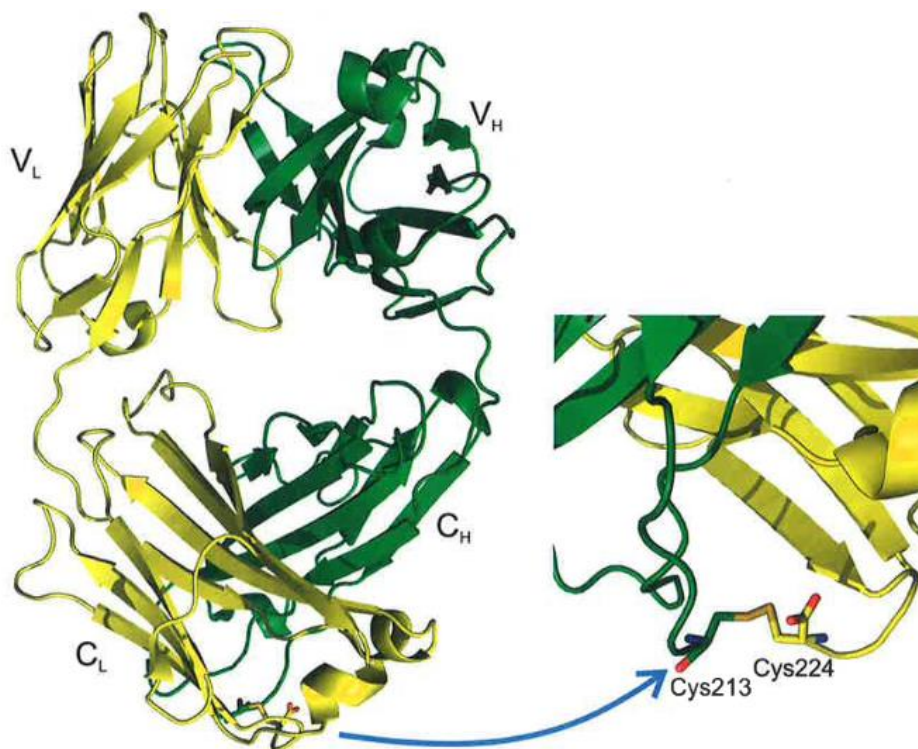
Monoklonsko tijelo čine dva heterodimerna lanca (slika 56) – laki (B,L) i teški (A,H). Fab dio teškog lanca sadrži 4 disulfidne veze, 9 3_{10} zavojnica, 2 obrnuta γ -okreta, 37 β -lanaca, 19 okreta tipa I', 4 okreta tipa II', 16 okreta tipa IV', 3 okreta tipa VIII' i 9 β -izoliranih mostova.

Laki lanac ima 5 disulfidnih veza, 4 α -zavojnice, 2 3_{10} zavojnice, 38 β -lanaca, 1 obrnuti γ -okret, 6 okreta tipa I, 2 okreta tipa I', 8 okreta tipa II, 2 okreta tipa II', 19 okreta tipa IV' i 6 okreta tipa VIII'.¹²



Slika 55. Interakcije rituximab Fab-a i peptidnog epitopa. CDR-ovi Fab-a prikazani su petljama.

H1, H2, H3, L1, L2, L3. Peptid je bojen svijetloplavo. Četiri CDR petlje (H1, H2, H3 i L3) oblikuju džep u koji se smješta epitope peptide (a). Površina elektrostatskog potencijala Fab-a rituximaba u području veznog džepa pokazuje strukturnu i kemijsku komplemetarnost između Fab-a i peptida, Strukturni motiv ¹⁷⁰ANPS¹⁷³ epitopa CD20 smješten je u džepu kojeg oblikuju četiri petlje navedene pod a). Položaji nekoliko bočnih ogranačkih aminokiselina epitopa obilježeni su za usporedbu (b). Detaljniji prostorni prikaz vodikovih veza između bočnih ogranačkih aminokiselina epitopa CD20 i CDR petlji H1 i H3 (c, d).¹



Slika 56. Struktura rituximaba gdje je laki lanac obojan žutom, a teški lanac zelenom bojom. Svaki od lanaca sastoji se od dvije poddomene označene s V_L i C_L kod lakog lanca te C_H i V_H kod teškog lanca. Nastaje disulfidne most na kraju peptidnih lanaca i povezuje C_L i C_H poddomene (umetak desno).¹

2.15.3. Mehanizam

Rituxan se veže na CD20, transmembranski protein, na površini zrelih B stanica čime ih obilježava za razgradnju. Napada normalne i zloćudne B stanice,⁸⁶ ali normalne se mogu regenerirati iz vlastitih (matične stanice nemaju CD20 antigen) ili iz matičnih stanica transplantiranih krvlju.⁸⁷

Vežanjem na CD20, internalizira ih u lipidne splavi, a time neizravno uzrokuje smrt stanice citotoksičnošću ovisnoj o komplementu.⁸⁶

Rituxan se mišjim dijelom antitijela (varijabilno područje) veže na CD20 (stvara kapu), a humaniziranim (konstantno područje) kristalizabilnim fragmentom (Fc) privlači proteine i druge stanice na taj dio B stanice.

Privlači prirodnoćelne stanice (NK). Kad je NK stanica vezana na kapu, postoji 80% vjerojatnosti da ubije B stanicu. Dok za slučaj kad se ne veže na kapu, ta vjerojatnost iznosi samo 40%. Može povećati osjetljivost na kemoterapiju i potaknuti apoptozu. Dovodi do promjene oblika stanice te urušavanja citoskeleta i konačno raspada stanice.^{1, 87}

§ 3. BUDUĆNOST LIJEČENJA TUMORA

Provođenjem genetičkog testiranja može se analizirati DNA tumora te primijeniti lijekove koji djeluju na specifične mutacije ili prepoznati rizike od mogućih rakova te poduzeti preventivne mjere.⁸⁸ Usporedbom sekvenci normalnih i tumorskih stanica mogu se razviti personalizirani antitumorski lijekovi koji se daju u obliku mRNA koja nosi upute za proteine koji „pokazuju“ imunom sustavu rak.⁸⁸⁻⁸⁹ Također se nastoji povećati raznolikost u kliničkim testiranjima (dob, spol, rasa i slično) kako bi se ustanovio utjecaj genomske varijacije na učinkovitost i ishod liječenja.

Ciljane imunoterapije su već sada dostupne za neke tumore, poput inhibitora imunskih kontrolnih točaka, monoklonskih antitijela, imunomodulatora i CAR T stanica. Prethodno je većina objašnjena kroz rad osim CAR T stanica.⁸⁸ CAR T stanice su genetski modificirane T stanice pacijenta tako da proizvode himerne receptore antigena koji specifično prepoznaju antigen na ciljanim stanicama tumora. Za sad se većinom primjenjuje za rakove krvi, ali istražuje se i primjena kod čvrstih tumora.⁸⁸⁻⁸⁹

Otkriće CRISPR/Cas9 je revolucioniralo uređivanje gena, a ističe se i njegova primjena u liječenju raka.⁸⁹ Funkcionira kao par škara i ljepilo koji rade popravke u DNA. Npr. izrezivanjem gena koji kodira PD-1 onemogućit će se da tumor izbjegne imunski napad ili se može izrezati gene koji kodiraju za rezistenciju na lijek. Zbog svoje jednostavnosti, brzine (potrebni su mjeseci, a ne godine za liječenje), ali i preciznosti može poboljšati liječenje CAR T stanicama.⁸⁹⁻⁹⁰

Mikroorganizmi koji žive na ljudima utječu na neke dijelove ljudskog zdravlja, ističe se interakcija s imunim sustavom. S obzirom da stanice imunskog sustava često ne vide stanice tumora, ali u mikrobiomu postoje peptidi koji oponašaju antigene na površini tumorskih stanica moguće je stanice tumora učiniti vidljivima za imunski sustav.⁸⁹

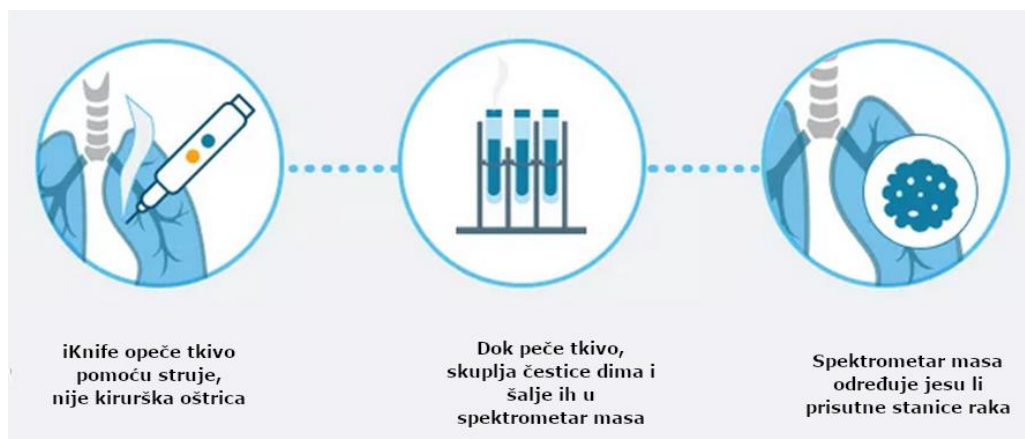
Napretkom tehnologije omogućeno je da se tumor pronađe i istovremeno uništi pomoću radijacijskog uređaja (čeka odobrenje FDA-e), a ne oštete se okolna tkiva. Razvijen je i sustav za dostavu kemoterapije (PIPAC – pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy) koji laparoskopskom metodom unosi antitumorski lijek u obliku aerosola u abdomen.⁸⁸

Unaprijeđena je kvaliteta kirurških zahvata jer se korištenjem robota omogućuje veća preciznost. Kirurg sjedi za uređajem gdje upravlja robotskim rukama koje vrše zahvat. Polako

se uvodi umjetna inteligencija koja bi svojim algoritmima mogla temeljem MRI i CT slike detektirati tumore i druge bolesti. Primijećeno je da korištenje virtualne stvarnosti (VR) tijekom kemoterapije popravlja raspoloženje te da bi se VR mogla koristiti kao palijativno liječenje. Razvija se i nanotehnologija koja bi lako mogla naći svoju primjenu u liječenju raka (preciznija dostava kemoterapije, biosenzori koji detektiraju promjenu tumorskih biomarkera). Nedavno je razvijen inteligentni nož (iKnife; slika 57) koji opeče tkivo pomoću struje tijekom čega skuplja čestice dima (od pečenja). Potom se te čestice šalju u spektrometar masa koji određuje jesu li prisutne molekule raka. Očite su neke prednosti kao što je detekcija bliža stvarnom vremenu, dok se inače čeka danima ili tjednima nalaz od patologa (može odrediti i vrstu raka). S obzirom na brzinu nalaza, kirurg zna reže li zdravo ili tumorsko tkivo, a tako se smanjuje i učestalost ponavljanja operacije i recidiva tumora. Prepoznaje vrstu masti koju tumor koristi za rast, pa se pacijentima može savjetovati što da izbjegavaju u prehrani.

Razvija se i nanomedicina – korištenje malih čestica za liječenje bolesti. Čestice se ponašaju kao građevne jedinice koje uzimanjem određenog oblika mogu interagirati sa stanicama tumora (neki čak unutar njih), a pritom ne oštećuju normalne stanice.

Pronalaze se nove uloge za eksosome – male mjehuriće koji sudjeluju u međustaničnoj komunikaciji. Koriste se za prijenos lijeka direktno u tumor i dovoljno su maleni da mogu prijeći krvno-moždanu barijeru.



Slika 57. Mehanizam djelovanja inteligentnog noža. Slika je preuzeta iz⁹⁰ te obrađena.

Jedna od novih tehnologija su polja koja tretiraju tumor (Optune ili TTFields), čije se četiri adhezivne zakrpice (engl. patch) postave oko tumora te se kroz njih propuštaju alternirajuća električna polja niskog intenziteta što ometa diobu tumorskih stanica.

Uz novu tumorsku tehnologiju poboljšavaju se dijagnostička testiranja koja prati cirkulirajuću tumorsku DNA (ctDNA) – tumorske stanice se brzo dijele, a kad stanica umre ispusti svoj sadržaj u krv. Na ovaj način iz uzorka krvi se može odrediti vrsta tumora i genetički sastav, čak i prije nego se na slikama opaze nepoznati izrasti, što znači da se omogućava rana dijagnoza. Još jedno od poboljšanja dijagnostičkog testiranja odnosi se na određivanje najprikladnije terapije. Prije se uzimao uzorak tkiva, usadio u miša te se proučavala reakcija na različita liječenja (ksenograft dobiven od pacijenta). 2021. je otkriveno da se geni zebrice 82% poklapaju s ljudskima (bolje poklapanje nego s mišjim genima). Ovaj prediktivni model bi mogao napredovati toliko da više neće biti potrebe za genetički sličnim životinjama već da se simulacije i testiranja odvijaju na kompjuteru. To se naziva *in silico* modeliranje te pruža mogućnost razvijanja boljih planova za liječenje, ali i boljih antitumorskih lijekova.⁹⁰

§ 4. POPIS KRATICA

Tablica 1. Popis kratica korištenih u radu.

Kratika	Naziv na engleskom jeziku	Naziv na hrvatskom jeziku
ABC transporter	ATP-binding cassette transporters	transporter s ATP-veznom kazetom
ADAPT	antibody-directed abzyme prodrug therapy	terapija prekursorom abzima usmjerenog na antitijelo
ADCC	antibody-dependent cellular cytotoxicity	citotoksičnost ovisna o antitijelu
ADCP	antibody-dependent cellular phagocytosis	fagocitoza ovisna o antitijelima
ADEPT	antibody-directed enzyme prodrug therapy	terapija prekursorom enzima usmjerenog na antitijelo
ADP	adenosine diphosphate	adenozin difosfat
AIBN	azobisisobutyronitrile	azobisizobutironitril
AKR1C3	aldo-keto reductase family 1 member C3	C3 član obitelji aldo-keto reduktaza
Akt 1	serine/threonine kinase 1	serin/treonin kinaza 1
Akt2	RAC- β serine/threonine-protein kinase	RAC- β serin/treonin protein kinaza
AL	primary amyloidosis	primarna amiloidoza
ALI	acute lung injury	akutna ozlijeda pluća
AMD	age-related macular degeneration	senilna makularna degeneracija
AML	acute myeloid leukaemia	akutna mijeloična leukemija
Apaf-1	apoptotic protease activating factor-1	aktivirajući faktor-1 apoptozne proteaze
APC	antigen-presenting cell	antigen-prezentirajuća stanica
AR	androgen receptor	receptor za androgene
ARDS	acute respiratory distress syndrome	sindrom akutnog respiratornog distresa
Asn	asparagine	asparagin
ATP	adenosine 5'-triphosphate	Adenozin trifosfat
Bad	BCL2 associated agonist of cell death	BCL-2 agonist stanične smrti
BAFF	B-cell activating factor	aktivirajući faktor B-stanica
Bax	BCL2-Associated X Protein	BCL-2 asocirajući protein x
Bcl-2	B-Cell Leukemia/Lymphoma 2	protein B-staničnog limfoma 2
Bcl-xL	B-cell lymphoma-extra large	ekstra veliki protein B-staničnog limfoma
BFGF	basic fibroblast growth factor	faktor rasta bazičnog fibroblasta

BIM	Bcl-2-like protein 11	protein 11 sličan Bcl-2
BMSC	bone-marrow mesenchymal stem cells	stromalne stanice koštane srži
BTK	Bruton's tyrosine kinase	Brutonova tirozin kinaza
cADPR	cyclic adenosine 5'-diphosphate ribose	ciklična adenzin 5'-difosfat riboza
CAM	cell adhesion molecules	stanična adhezijska molekula
CAR T cells	chimeric antigen receptor T-cells	T stanice s kimernim receptorom antigena
CD28	cluster of Differentiation 28	kluster diferencijacije 28
CD29	integrin β -1 (ITGB1)	integrin β -1
CD38	cluster of differentiation 38	kluster diferencijacije 38
CDC	complement-dependent cytotoxicity	citotoksičnost ovisna o komplementu
CDK	cyclin-dependent kinase	kinaza ovisna o ciklinima
CDR	commonly deleted region	učestala deletirana regija
CDR	complementarity-Determining Regions	regija koja određuje komplementarnost
cHL	classic Hodgkin lymphoma	klasični Hodgkinov limfom
CK1 α	casein kinase 1 α	kazein kinaza 1 α
CKI	cyclin-dependent kinase inhibitor	inhibitor kinaze ovisne o ciklinima
CLL	chronic lymphocytic leukemia	kronična limfocitna leukemija
CRBN	cereblon	cereblon
CRC	colorectal cancer	kolorektalni rak
CRPC	castration-resistant prostate cancer	rak prostate rezistentan na kastraciju
cSCC	cutaneous squamous cell carcinoma	planocelularni karcinom kože
CSNK1A1	casein kinase 1 alpha 1	kazein kinaza 1 α 1
CT	computed tomography	kompjuterska tomografija
ct-DNA	circulating tumor DNA	cirkulirajuća tumorska DNA
CXCL 12	C-X-C Motif Chemokine Ligand 12	kemokinski ligand 12 s C-X-C motivom
CXCL 13	C-X-C Motif Chemokine Ligand 13	kemokinski ligand 13 s C-X-C motivom
CYP	enzymes that constitute the cytochrome P450 family	enzimi koji čine obitelj citokroma P450
Cys	Cysteine	cistein
dATP	deoxyadenosine triphosphate	deoksiadenozin trifosfat
DBD	DNA-binding domain	domena za vezanje DNA
DCM	dichloromethane	diklormetan
DED	diabetic eye disease	dijabetička neuropatija
DHT	dihydrotestosterone	dihidrotestosteron

dMMR	deficient mismatch repair	nedostatak mehanizma popravka pogrešno spojenih baza
DMSO	dimethyl sulfoxide	dimetil sulfoksid
DNA	deoxyribonucleic acid	deoksiribonukleinska kiselina
dTMP	deoxythymidylate monophosphate	deoksitimidilat monofosfat
EGF-R	epidermal growth factor receptor	receptor epidermnog faktora rasta
Erb-B2	erb-b2 receptor tyrosine kinase 2	erb-b2 receptor tirozin kinaze 2
erk-1/2	extracellular signal-regulated protein kinase	protein kinaza regulirana izvanstaničnim signalom
EtOAc	ethyl ethanoate	etil-etanoat
Fab	fragment antigen-binding	mjesto vezanja antigena
FAS	FS-7-associated surface antigen	FS-7-asocirajući površinski antigen
Fc	fragment crystallizable	kristalizabilni fragment
FDA	US Food and Drug Administration	Američka agencija za hranu i lijekove
FL	follicular lymphoma	folikularni limfom
FLIP	FLICE inhibitory protein	FLICE inhibitorni protein
FPP	farnesyl diphosphate	farnezil difosfat
FT	farnesyl transferase	farnezil transferaza
Gab 1	GRB2 Associated Binding Protein 1	vezujući protein 1 povezan s GRB2
GDEPT	gene-directed enzyme prodrug therapy	terapija prekursorom enzima usmjerenog na gen
GDP	guanosine diphosphate	gvanozin difosfat
GGTaza	geranylgeranyltransferase	geranilgeranil-transferaza
Glu	glutamic acid	glutamat
GSK3	glycogen synthase kinase 3	kinaza glikogen-sintaze 3
GTP	guanosine triphosphate	gvanozin trifosfat
GVHD	graft-versus-host disease	bolesti presatka protiv primatelja
HBV	hepatitis B virus	virus hepatitisa B
HER2	human epidermal growth factor receptor 2	receptor humanog epidermalnog faktora rasta 2
HIF-1	hypoxia-inducible factor 1	inducibilni faktor hipoksije 1
HNSCC	head and neck squamous cell carcinoma	skvamozni rak stanica glave i vrata
HR	hormone receptor	hormonski receptor
HRG	heregulin	heregulin
ICAM-1	intercellular adhesion molecule 1	međustanična adhezijska molekula 1
IFN- γ	interferon γ	interferon γ
IGF-1	insulin-like growth factor 1	faktor rasta sličan inzulinu 1
IGF-1R	insulin like growth factor 1 receptor	receptor za faktore rasta slične inzulinu 1

IgG	immunoglobulin G	imunoglobulin G
IKK α (I κ B α)	I κ B kinase	I κ B kinaza
IKZF1	Ikaros	Ikaros
IKZF3	Aiolos	Aiolos
IL-1	interleukin-1	interleukin 1
Ile	Isoleucine	izoleucin
IP 3	inositol triphosphate	inozitol trifosfat
IPA	isopropyl alcohol	izopropanol
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry	Međunarodna unija za čistu i primijenjenu kemiju
JAK-STAT	Janus kinase-signal transducer and activator of transcription	Janus kinaza-prenositelj signala i aktivator transkripcije
LBD	ligand binding domain	domena za vezanje liganda
Leu	leucine	leucin
LH	luteinizing hormone	luteinizirajući hormon
LHRH	luteinizing hormone-releasing hormones	hormon koji oslobađa luteinizirajući hormon
MAP	mitogen-activated protein	protein aktiviran mitogenom
MAPK	mitogen-activated protein kinase	mitogenom-aktivirana proteinska kinaza
MBC	metastatic breast cancer	metastatski karcinom dojke
MCC	merkel cell carcinoma	karcinom Merkelovih stanica
MCL	mantle cell lymphoma	limfom plaštenih stanica
Mcl-1	myeloid cell leukemia-1	mijeloidni leukemijski protein
MDM3	murine double minute 3	N/A
MDR	multidrug resistance	višestruka otpornost na lijekove
MDS	myelodysplastic syndrome	mijelodisplastični sindrom
MEK	mitogen-activated protein kinase kinase	kinaza kinaze mitogen-aktiviranog proteina
Met	methionine	metionin
MF	myelofibrosis	primarna mijelofibroza
mHSPC	metastatic hormone-sensitive prostate cancer	metastatski hormonski osjetljivi rak prostate
MLZ	marginal zone lymphoma	limfom marginalne zone
MM	multiple myeloma	multipli mijelom
MMP	matrix metalloproteinase	matriksna metaloproteinaza
MRI	magnetic resonance imaging	magnetska rezonanca
mRNA	messenger RNA	glasnička RNA
MSI-H	microsatellite instability-high	visokom mikrosatelitskom nestabilnosti
MT	membrane type	membranski tip

mTOR	mammalian target of rapamycin	meta rapamicina kod sisavaca
NAADP ⁺	nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate	nikotinska kiselina adenin dinukleotid fosfat
NAD ⁺	nicotinamide adenine dinucleotide	nikotinamid adenin dinukleotid
NADP ⁺	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
NBS	N-bromosuccinimide	N-bromosukcinimid
NF- κ B	nuclear factor κ -light-chain-enhancer of activated B cells	Nuklearni faktor κ -laki lanac-pojačivač aktiviranih B stanica
NK cells	natural killer cell	prirodnoubilačke stanice
NMP	N-methyl-2-pyrrolidone	N-metil-2-pirolidon
NRP	neuropilin	neuropilin
NSAA	nonsteroidal antiandrogen	nesteroidni antiandrogen
NSCLC	non-small cell lung cancer	rak pluća nemalih stanica
NTD	N-terminal domain	N-terminalna domena
p21	cyclin dependent kinase inhibitor 1A	inhibitor kinaze 1A ovisan o ciklinu
p53	tumor suppressor p53	tumor supresor p53
pb	pair base	parovi baza
PD-1	programmed cell death protein 1	protein programirane stanične smrti-1
PDGF	platelet-derived growth factor	faktor rasta koji potječe od trombocita
PD-L1	programmed cell death ligand-1	ligand programirane stanične smrti 1
PD-L2	programmed cell death ligand-2	ligand programirane stanične smrti 2
PDT	photodynamic therapy	fotodinamička terapija
PERK	protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase	protein-kinaza R nalik endoplazmatskoj retikulum-kinazi
PI3K	phosphatidylinositol 3-kinase	fosfatidilinozitol-3-kinaza
PIP 2	phosphatidylinositol diphosphate	fosfatidilinozitol difosfat
PIPAC	pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy	intraperitonealna aerosolna kemoterapija pod pritiskom
PKB (Akt)	protein kinase B	protein kinaza B
PKC	protein kinase C	protein kinaza C
PLC- γ	phospholipase C γ	fosfolipaze C- γ
PMBCL	primary mediastinal large B-cell lymphoma	primarni medijastinalni limfom B stanica
PML	progressive multifocal leukoencephalopathy	progresivna multifokalna leukoencefalopatija
PPIC	peptidylprolyl isomerase C	peptidilprolil-izomeraza C
pRB	retinoblastoma protein	retinoblastomski protein
PTEN	phosphatase and tensin homolog	homolog fosfataze i tenzina
PV	polycythemia vera	policitemija vera

Raf	rapidly accelerated fibrosarcoma	brzo napredujući fibrosarkom
RANK	receptor activator of nuclear factor κ B	receptor aktivator nukleranog faktora κ B
Ras	rat sarcoma virus	virus sarkoma štakora
RCC	renal cell carcinoma	rak bubrežnih stanica
RNA	ribonucleic acid	ribonukleinska kiselina
RPS14	40S ribosomal protein S14	40S ribosomski protein S14
SCLC	small-cell lung carcinoma	rak pluća malih stanica
Ser	serine	serin
SLL	small lymphocytic lymphoma	limfoma malih limfocita
SOS	Son of Sevenless (guanosine nucleotide exchange factors)	faktor izmjene nukleotida gvanina
SPARC	secreted protein acidic and cysteine rich	izlučeni protein kiseli i bogati cisteinom
STAT	signal transducer and activator of transcription	prenositelj signala i aktivator transkripcije
TCR	T-cell receptor	receptor T stanica
TEA	triethanolamine	trietilamin
TGF- α	transforming growth factor α	transformirajući faktor rasta α
TGF- β	transforming growth factor β	transformirajući faktor rasta β
THF	tetrahydrofolate	tetrahidrofolat
TLR	toll-like receptor	receptor sličan Tollu
TNBC	triple-Negative Breast Cancer	trostruko negativan rak dojke
TNF-R	tumour necrosis factor receptor	receptor tumorskog čimbenika nekroze
TNF- α	tumor necrosis factor	faktor nekroze tumora α
TPBG	trophoblast glycoprotein	trofoblast glikoprotein
TRAIL	TNF-related apoptosis-inducing ligand	ligand koji izaziva apoptozu povezan s tumorskim faktorom nekroze
TRAP	tartrate-resistant acid phosphatase	kisela fosfataza otporna na tartarat
Val	valine	valin
VCAM-1	vascular cell adhesion protein 1	protein adhezije vaskularnih stanica 1
VEGF	vascular endothelial growth factor	vaskularni endotelni faktor rasta
VEGFR	vascular endothelial growth factor receptor	receptor vaskularnog endotelnog faktora rasta
VR	virtual reality	virtualna stvarnost
WM	Waldenström macroglobulinemia	Waldenströмова makroglobulinemija

§ 5. LITERATURNI IZVORI

1. M. Mintas, K. Wittine, Z. Štefanić, *Novi lijekovi protiv raka*, Školska knjiga, 2018, str.165–202.
2. G.L. Patrick, *An Introduction to Medicinal Chemistry*, Oxford University Press, Oxford, 2013, str. 514-574.
3. A. di Lonardo, S. Nasi, S. Pulciani, *J. Cancer* **6** (2015) 29–39.
4. <https://www.fiercepharma.com/special-report/special-report-top-15-best-selling-cancer-drugs-2022> (datum pristupa 17.7.2022.)
5. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Lenalidomide> (datum pristupa 18. srpnja 2022.)
6. <https://jhoonline.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-8722-2-36> (datum pristupa 18. srpnja 2022.)
7. R. Rao, R. Nandipati, R. Gooda, M.P. Shewalkar, V.V, Bhadke, *An improved process for synthesis of lenalidomide*, W.O. Patent 2016024286A2, 2015.
8. E.C. Fink, B.L. Ebert, *Blood* **126** (2015) 2366–2369.
9. https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/revlimid-epar-medicine-overview_hr.pdf (datum pristupa 18. srpnja 2022.)
10. <https://en.wikipedia.org/wiki/Nivolumab> (datum pristupa 7. kolovoza 2022.)
11. <https://www.rcsb.org/structure/5wt9> (datum pristupa 7. kolovoza 2022.)
12. <http://webclu.bio.wzw.tum.de/cgi-bin/stride/stridecgi.py> (datum pristupa 7. kolovoza 2022.)
13. J.Y.Lee, H.T. Lee, W. Shin, J. Chae, J. Choi, S.H. Kim, H. Lim, T. Won Heo, K.Y. Park, Y.J. Lee, et al. *Nat Commun* **7** (2016) 1-10.
14. <https://go.drugbank.com/drugs/DB09035> (datum pristupa 7. kolovoza 2022.)
15. L. Guo, H. Zhang, B. Chen *J Cancer* **8** (2017) 410–416.
16. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ibrutinib> (datum pristupa 7. kolovoza 2022.)
17. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/imbruvica-epar-product-information_hr.pdf (datum pristupa 7. kolovoza 2022.)
18. <https://en.wikipedia.org/wiki/Ibrutinib> (datum pristupa 7. kolovoza 2022.)
19. C. Peng, Y. Ouyang, N. Lu, N. Li, *Front Immunol* **11** (2020) 1-13.
20. S.A. Rushworth, K.M. Bowles, L.N. Barrera, M.Y. Murray, L. Zaitseva, D. J. MacEwan, *Cell Signal* **25** (2013) 106–112.
21. C.M. Nguyen, S.E. Jacob, *J Dermatol Nurses Assoc* **9** (2017) 95–97.
22. <https://go.drugbank.com/drugs/DB09037> (datum pristupa 10. kolovoza 2022.)
23. <https://www.rcsb.org/structure/5DK3> (datum pristupa 10. kolovoza 2022.)
24. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/keytruda-epar-product-information_hr.pdf (datum pristupa 10. kolovoza 2022.)
25. <https://en.wikipedia.org/wiki/Pembrolizumab> (datum pristupa 10. kolovoza 2022.)
26. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Palbociclib> (datum pristupa 11. kolovoza 2022.)
27. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ibrance-epar-product-information_hr.pdf (datum pristupa 11. kolovoza 2022.)
28. <https://www.rcsb.org/structure/5L2I> (datum pristupa 11. kolovoza 2022.)
29. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/tecentriq-epar-product-information_hr.pdf (datum pristupa 11. kolovoza 2022.)

30. <https://en.wikipedia.org/wiki/Atezolizumab> (datum pristupa 11. kolovoza 2022.)
31. F. Zhang, X. Qi, X. Wang, D. Wei, J. Wu, L. Feng, H. Cai, Y. Wang, N. Zeng, T. Xu et al. *Oncotarget* **8** (2017) 90215-90224.
32. <https://www.cancernetwork.com/view/atezolizumab-and-its-many-uses> (datum pristupa 11. kolovoza 2022.)
33. <https://go.drugbank.com/drugs/DB11595> (datum pristupa 11. kolovoza 2022.)
34. H.T. Lee, J.Y. Lee, H. Lim, S.H. Lee, Y.J. Moon, H.J. Pyo, S.E. Ryu, W. Shin, Y.S. Heo, *Sci Rep* **7** (2017) 1-12.
35. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/darzalex-epar-product-information_hr.pdf (datum pristupa 12. kolovoza 2022.)
36. <https://go.drugbank.com/drugs/DB09331> (datum pristupa 12. kolovoza 2022.)
37. <https://en.wikipedia.org/wiki/Daratumumab> (datum pristupa 12. kolovoza 2022.)
38. H.T. Lee, Y. Kim, U.B. Park, T.J. Jeong, S.H. Lee, Y.S. Heo, *Biochem Biophys Res Commun* **536** (2021), 26–31.
39. <https://www.darzalexhcp.com/iv/mechanisms-of-action> (datum pristupa 12. kolovoza 2022.)
40. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/perjeta-epar-product-information_hr.pdf (datum pristupa 16. kolovoza 2022.)
41. <https://www.rcsb.org/structure/1S78> (datum pristupa 16. kolovoza 2022.)
42. <https://en.wikipedia.org/wiki/Pertuzumab> (datum pristupa 16. kolovoza 2022.)
43. M. Capelan, L. Pugliano, E. de Azambuja, I. Bozovic, K.S. Saini, C. Sotiriou, S. Loi, M.J. Piccart-Gebhart, *Ann. Oncol.* **24** (2013) 273–282.
44. B. Nami, H. Maadi., Z. Wang, *Cancers* **10** (2018) 1-21.
45. <https://go.drugbank.com/drugs/DB06366> (datum pristupa 17. kolovoza 2022.)
46. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Enzalutamide> (datum pristupa 17. kolovoza 2022.)
47. R. Thennati, S.D. Dwivedi, A.G. Yadav, N.V. Patel, S.R. Karanke, *A process for preparation of enzalutamide*, W.O. Patent 2017/081702, 2017.
48. <https://en.wikipedia.org/wiki/Enzalutamide> (datum pristupa 17. kolovoza 2022.)
49. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/xtandi-epar-product-information_hr.pdf (datum pristupa 17. kolovoza 2022.)
50. J. Schalken, J.M. Fitzpatrick, *BJU Int* **117** (2016), 215–225.
51. F. Saad, *Ther Adv Urol* **5** (2013), 201–210.
52. F. Kazazi-Hyseni, J.H. Beijnen, J.H.M Schellens, *Oncologist* **15** (2010), 819–825.
53. <https://go.drugbank.com/drugs/DB00112> (datum pristupa 15. kolovoza 2022.)
54. L.M. Ellis, *Semin Oncol* **33** (2006) 1-7.
55. Y. Tang, Z. Yu, X. Lu, Q. Fan, W. Huang, *Advanced Science* **9** (2022) 1-33.
56. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/avastin-epar-product-information_hr.pdf (datum pristupa 15. kolovoza 2022.)
57. <https://www.rcsb.org/structure/7V5N> (datum pristupa 15. kolovoza 2022.)
58. <https://go.drugbank.com/drugs/DB00072> (datum pristupa 14. kolovoza 2022.)
59. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/herceptin-epar-product-information_hr.pdf (datum pristupa 14. kolovoza 2022.)
60. <https://en.wikipedia.org/wiki/Trastuzumab> (datum pristupa 14. kolovoza 2022.)
61. https://proteopedia.org/wiki/index.php/Herceptin_-_Mechanism_of_Action (datum pristupa 14. kolovoza 2022.)
62. <https://www.herceptin.com/hcp/treating-HER2-cancer.html> (datum pristupa 14. kolovoza 2022.)

63. V.J. Findlay, E. Scholar, *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference* (2007) 1–5.
64. H.-S. Cho, K. Mason, K.X. Ramyar, A.M. Stanley, S.B. Gabelli, D.W. Denney, D.J. Leahy, *Nature* **421** (2003), 756–760.
65. <https://www.rcsb.org/structure/1N8Z> (datum pristupa 14. kolovoza 2022.)
66. T. Vu, F.X. Claret, *Front Oncol* **2** (2012) 1–6.
67. C.A. Hudis, *N Engl J Med.* **357** (2007) 39–51.
68. <https://www.gazyva-hcp.com/cell/moa/proposed-moa.html> (datum pristupa 17. kolovoza 2022.)
69. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/gazyvaro-epar-product-information_hr.pdf (datum pristupa 17. kolovoza 2022.)
70. <https://go.drugbank.com/drugs/DB08935> (datum pristupa 14. kolovoza 2022.)
71. <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/cancer-in-general/treatment/cancer-drugs/drugs/obinutuzumab> (datum pristupa 14. kolovoza 2022.)
72. <https://www.rcsb.org/structure/6Y9A> (datum pristupa 14. kolovoza 2022.)
73. B. Ma, C. Ujjani, *Cancer Manag Res* **9** (2017), 103–113.
74. K. Tobinai, C. Klein, N. Oya, G. Fingerle-Rowson, *Adv Ther* **34** (2017) 324–356.
75. <https://www.nature.com/articles/d42473-018-00278-8> (datum pristupa 16. kolovoza 2022.)
76. <https://go.drugbank.com/drugs/DB08877> (datum pristupa 16. kolovoza 2022.)
77. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34033362/> (datum pristupa 16. kolovoza 2022.)
78. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ruxolitinib> (datum pristupa 16. kolovoza 2022.)
79. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/jakavi-epar-product-information_hr.pdf (datum pristupa 16. kolovoza 2022.)
80. <https://www.rcsb.org/structure/6VGL> (datum pristupa 16. kolovoza 2022.)
81. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Venetoclax> (datum pristupa 17. kolovoza 2022.)
82. <https://go.drugbank.com/drugs/DB11581> (datum pristupa 17. kolovoza 2022.)
83. <https://www.rcsb.org/structure/6O0K> (datum pristupa 17. kolovoza 2022.)
84. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/venclyxto-epar-product-information_hr.pdf (datum pristupa 17. kolovoza 2022.)
85. <https://go.drugbank.com/drugs/DB00073> (datum pristupa 16. kolovoza 2022.)
86. R. Mohammed, A. Milne, K. Kayani, U. Ojha, *J Blood Med* **10** (2019), 71–84.
87. <https://en.wikipedia.org/wiki/Rituximab> (datum pristupa 16. kolovoza 2022.)
88. <https://www.cityofhope.org/breakthroughs/5-oncology-breakthroughs-to-be-excited-about-in-2022> (datum pristupa 18. kolovoza 2022.)
89. <https://www.labiotech.eu/in-depth/cancer-treatments-immuno-oncology/> (datum pristupa 18. kolovoza 2022.)
90. <https://www.asbestos.com/featured-stories/future-cancer-treatment/> (datum pristupa 18. kolovoza 2022.)