

# Protutijela u ciljanoj terapiji tumora

---

Rajić, Zrinka

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2011, 67, 553 - 564**

**Journal article, Published version**

**Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:263267>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



# Protutijela u ciljanoj terapiji tumora

ZRINKA RAJIĆ

Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

## UVOD

Jedan je od glavnih problema u kemoterapiji tumora ograničena selektivnost citostatika. Temeljna pretpostavka je da su stanice koje se brzo dijele, poput tumorskih stanica, osjetljivije na citotoksični učinak tih lijekova. Međutim, nakon peroralne/intravenske primjene, lijek se najčešće ravnomjerno raspodjeljuje po cijelom organizmu te djeluje i na tumorske i na normalne stanice, najčešće one koje karakterizira ubrzana dioba (1). Uništenje stanica nije selektivno pa dolazi do ozbiljnih nuspojava. Ciljana kemoterapija tumora nastoji usmjeriti djelovanje lijeka na tumorske stanice, što je moguće postići uklapanjem citotoksičnih lijekova u liposom, vezanjem na polimere ili protutijela (2).

Uporaba antigena u terapiji tumora moguća je zbog pojave da stanice tumora često imaju promijenjene stanične membrane s nešto drukčijim antigenima u odnosu na normalne stanice (3). Antigeni vezani uz tumor (*tumor associated antigen*, TAA) osim što su prisutni na nekim tumorskim stanicama, mogu biti prisutni i na nekim normalnim stanicama. Za razliku od njih, tumor-specifični antigeni (*tumor specific antigen*, TSA) su neki mutirani oblici proteina, koji su normalno prisutni u zdravim stanicama ili pretjerano ekspimirani proteini na tumorskim stanicama u odnosu na normalne stanice.

Reakcija između protutijela i antigena je specifična, ali do nje dolazi na svim stanicama koje ekspimiraju određeni antigen, tj. ona nije specifična za tumorske stanice (4). Ne postoji idealni antigen ekspimiran isključivo na tumorskim stanicama u velikim količinama. Što je antigen selektivnije ekspimiran na tumorskim stanicama u odnosu na normalne stanice, djelovanje protutijela i konjugata protutijelo-citostatik bit će više usmjereno prema njima te će nuspojave lijeka biti slabije.

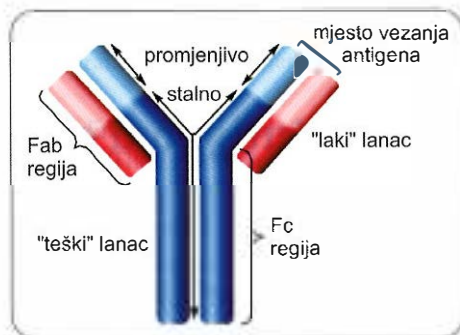
Iako je uporaba protutijela najčešća u terapiji tumora, ona nalaze primjenu i u znanstvenim istraživanjima (kvalitativne i kvantitativne analize), u dijagnostici te u terapiji reumatoidnog artritisa, psorijaze, postmenopauzalne osteoporoze, ulceroznog kolitisa, Chronove bolesti, multiple skleroze, profilaksi odbacivanja transplantiranih organa i nekih autoimunih hematoloških bolesti, kao što su autoimuna hemolitička anemija i idiopatska trombocitopenična purpura (5-9).

## PROTUTIJELA

Protutijela su glikoproteini, građeni od dva identična dugačka, »teška«, i dva identična kratka, »laka« polipeptidna lanca, međusobno povezana disulfidnim vezama, svaki sa stalnim i promjenjivim domenama (slika 1.) (10). Nalaze se u plazmi i izvanstaničnoj

tekućini, gdje daju prvi odgovor organizma na strane molekule i organizme (5). Visoka selektivnost svakog protutijela prema određenom antigenu (odnosno epitopu antigena) određena je strukturom promjenjivog područja vezanja antigena (10).

Razlikujemo poliklonska i monoklonska protutijela. Antigeni su složene molekule i imaju velik broj epitopa, koje prepoznaju različiti B-limfociti. Nakon toga dolazi do njihove aktivacije, proliferacije i diferencijacije u plazma stanice, »proizvođače« protutijela. Protutijela nastala na taj način nazivaju se poliklonskim protutijelima, jer ih proizvode različiti klonovi B-limfocita (5). Zbog toga što djeluju na različite epitope istog antigena, također se razlikuju i u strukturi (10). Za razliku od njih, monoklonska protutijela (MAb) proizvodi jedan klon B-limfocita. Strukturno su identična i reagiraju s istim epitopom (5, 10). Danas se u terapiji rabe monoklonska protutijela.



Slika 1. Protutijelo

## MONOKLONSKA PROTUTIJELA U TERAPIJI

Monoklonska se protutijela u terapiji tumora mogu upotrebljavati kao monoterapija ili u kombinaciji s kemoterapijom i radioterapijom (11). Druga mogućnost je priprema konjugata protutijela i citostatika, raznih toksina, radionuklida i citokina (1).

Prva MAb bila su mišjeg podrijetla. Osim raznih nuspojava (groznica, alergijske reakcije, bronhospazam, hipotenzija, tahikardija), glavni je problem, vezan uz njih bilo brzo izazivanje imunološke reakcije nakon primjene u čovjeka, što je uzrokovalo kratak poluvijek života u plazmi (4).

Sljedeća generacija bila su kimerna protutijela, proizvedena iz humanog monoklonskog protutijela, zamjenom promjenjive domene humanoga protutijela promjenjivom domenom mišjeg protutijela (10). Slijedila su humanizirana (stalna domena i dio promjenjive domene protutijela je humanog podrijetla) i potpuno humana protutijela (10).

Vezanje protutijela na antigen može dovesti do smrti stanice putem nekoliko različitih mehanizama:

1. Antagonističko djelovanje  
Ako je antigen receptor, vezanje protutijela ima antagonističko djelovanje i sprječava vezanje prirodnog liganda. Isto tako, antigen može biti ligand receptora te vezanje protutijela sprječava njegovo vezanje na receptor (8).
2. Signaliziranje  
Protutijela mogu vezanjem na antigen, koji je ujedno i receptor, inducirati stanično signaliziranje (8).
3. Citotoksičnost ovisna o komplementu  
Vezanje protutijela uzrokuje aktivaciju komplementa i lizu stanice (8).

## 4. Citotoksičnost ovisna o protutijelu

Vežanje protutijela na receptore za Fc regiju može dovesti do lize stanice (8).

## 5. Stanična fagocitoza ovisna o protutijelu.

Prvo je monoklonsko protutijelo u terapiji bio rituksimab, odobren 1997. za terapiju neHodginovog limfoma B-stanica (12). Na tržištu se nalazi kao Rituxan (Genentech/Biogen Idec) i MabThera (Roche) (13). Rituksimab je kimerno protutijelo usmjereno na CD20 antigen eksprimiran na površini nezrelih i zrelih B-limfocita. Možemo ga naći na površini normalnih limfocita i kod limfoma B-stanica niskog stupnja i rjeđe visokog stupnja (4, 6). Nakon vežanja na CD20 dovodi do uništenja stanice aktivacijom komplementa, vežanjem protutijela na receptore za Fc regiju, direktnom apoptozom i poremećenom aktivacijom T-stanica (6). Također se primjenjuje u terapiji kronične limfocitne leukemije i reumatoidnog artritisa (14), a postoje i kliničke studije o njegovoj djelotvornosti u terapiji autoimunih hematoloških bolesti (6).

Alemtuzumab (Campath/Genzyme) je humanizirano monoklonsko protutijelo koje također cilja B-limfocite, ali drugi antigen, CD52. Uglavnom se rabi u terapiji kronične limfocitne leukemije. Alemtuzumab i rituksimab se također ispituju u kliničkim studijama za liječenje multiple skleroze (9).

Trastuzumab, bevacicumab i cetuksimab djeluju na faktore rasta ili njihove receptore (tablica 1.) te se češće upotrebljavaju u terapiji solidnih tumora (4). O trastuzumabu kasnije, kod opisa konjugata trastuzumab emtansina.

**Tablica 1.** Pojedina MAb koja djeluju na faktore rasta ili njihove receptore

MAB	Trgovački naziv (proizvođač)	Tip	Meta	Indikacije
Trastuzumab	Herceptin (Genentech/Roche)	Humanizirano	Receptor 2 humanog epidermalnog faktora rasta (HER2 ili ErbB2)	Tumor dojke
Bevacicumab	Avastin (Roche)	Humanizirano	Vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF)	Kolorektalni karcinom Karcinom bubrega, mozga i pluća
Cetuksimab	Erbix (ImClone/Bristol-Myers Squibb/Merck KgAa)	Kimerno	Receptor epidermalnog faktora rasta (EGFR)	Kolorektalni karcinom Karcinom glave i vrata

Humana su protutijela najbrže rastuća klasa monoklonskih protutijela koja ulaze u kliničke studije (7). Do sada je u SAD-u odobreno 7 humanih monoklonskih protutijela, za terapiju tumora i druge indikacije (tablica 2.) (7).

**Tablica 2.** Humana monoklonska protutijela u terapiji

Humano MAb	Trgovački naziv (proizvođač)	Godina odobrenja	Meta	Indikacije
Adalimumab	Humira (Abbott)	2002.	Faktor nekroze tumora (TNF)	Reumatoidni, psorijatrični i juvenilni artritis Ankilozni spondilitis Chronova bolest Kronična plak psorijaza
Panitumumab	Vectibix (Amgen)	2006.	Receptor epidermalnog faktora rasta (EGFR)	Refraktorni metastatski kolorektalni karcinom s ekspresijom EGFR Metastatski karcinom debelog crijeva s ekspresijom EGFR
Golimumab	Simponi (Centocor)	2009.	Faktor nekroze tumora (TNF)	Reumatoidni i psorijatrični artritis Ankilozni spondilitis
Canakinumab	Ilaris (Novartis)	2009.	Interleukin-1 $\beta$	Periodični sindrom vezan za kriopirin
Ustekinumab	Stelara (Johnson & Johnson)	2009.	p40 podjedinica interleukina-12 i interleukina-23	Plak psorijaza
Ofatumumab	Arzerra (Genmab)	2009.	CD20	Kronična limfocitna leukemija rezistentna na alemtuzumab i fludarabin
Denosumab	Prolia (Amgen)	2010.	Receptor aktivacije liganda NF- $\kappa$ B	Postmenopauzalna osteoporoza Gubitak koštane mase kod tumora prostate zbog hormonalne terapije

## KONJUGATI PROTUTIJELA I CITOSTATIKA

Uz činjenicu da sama protutijela imaju protutumorsko djelovanje, također ih se može primjeniti za selektivnu dostavu citostatika, citokina, toksina i radionuklida tumorskim stanicama u većim koncentracijama nego što je to moguće konvencionalnom terapijom zbog uskog terapijskog indeksa. U ovom će radu biti opisani konjugati protutijela i citostatika.

Kriteriji za uspješne konjugate protutijela i citostatika su sljedeći (2):

1. Protutijelo mora biti humanizirano da bi se izbjegao imunološki odgovor organizma.
2. Protutijelo mora pokazivati selektivnost prema antigenu koji je pretjerano ekspresiran na tumorskim stanicama, a ne na normalnim stanicama.
3. Konjugat mora ući u stanicu endocitozom posredovanom receptorom.
4. Veza između protutijela i lijeka mora biti stabilna sve dok konjugat ne uđe u stanicu, gdje treba puknuti da bi došlo do otpuštanja i aktivacije lijeka.

Konjugati prve generacije bili su konjugati protutijela i metotreksata, vinca alkaloida i antraciklina (1). Ispitivanja su pokazala da je njihovo antitumorsko djelovanje slabije od djelovanja samog citostatika, dok je toksičnost ostala ista zbog dugog poluvremena života konjugata (2). Isto tako, prodiranje konjugata u tumor je ograničeno zbog veličine samog protutijela. Računa se da je količina MAb koja uspije prodrijeti u tumor samo 0,01 % primjenjene doze po gramu tumorskog tkiva (15). Zbog toga je količina lijeka dostavljena tumoru u pravilu bila manja nego kada je primjenjen sam lijek. Budući da veličinu konjugata određuje protutijelo, čija se veličina ne može značajno smanjiti, problem je riješen vezanjem isključivo vrlo aktivnih citostatika ( $IC_{50} < 10^{-10}$  M), koji pri niskim koncentracijama koje se postižu u tumorskim stanicama ispoljavaju učinkovito antitumorsko djelovanje (2, 15). Vezanje tih lijekova nije bez rizika: ako veza između lijeka i protutijela pukne u plazmi, doći će do snažnog toksičnog djelovanja, jer su oni 100 do 1000 puta citotoksičniji od konvencionalnih citostatika. Neki od takvih citostatika su radioaktivni izotopi, ricin, toksin difterije, ekzotoksin A iz bakterije *Pseudomonas aeruginosa*, adozelesin, kaliheamicin, jako potentni taksonidi, analozi doksorubicina, maitansinoidi i auristatini (2, 15).

Lijek se na protutijelo može vezati različitim načinima i pomoću različitih poveznica. Vrlo je važno da veza između lijeka i protutijela bude stabilna u krvnoj plazmi te da pukne kada konjugat uđe u tumorsku stanicu (2).

Jedna je metoda vezanje lijeka na primarnu amino skupinu lizina alkilacijom ili acilacijom. Međutim, ako se lijek veže na mjesto prepoznavanja antigena, vezanje protutijela na specifični antigen bit će spriječeno. Isto tako, polarne amino skupine pridonose hidrofilitnosti proteina te može doći do taloženja konjugata lijeka i protutijela (2).

Sljedeća je metoda redukcija četiriju disulfidnih veza između »teških« i »lakih« lanaca u ugljikohidratnoj regiji protutijela, pri čemu nastaje 8 tiolnih skupina na koje se lijekovi mogu vezati alkilacijom ili acilacijom. Na taj se način ne maskira mjesto prepoznavanja antigena, ali na jednu molekulu protutijela može se vezati samo 8 molekula lijeka. Problem se može riješiti poveznicom, koja može vezati više molekula lijeka (2). Disulfidne poveznice također mogu pridonijeti specifičnosti konjugata prema tumorskoj stanici, zbog toga što do pucanja veze dolazi izmjenom disulfida s intracelularnim tiolom, npr. glutationom, koji je prisutan u mnogo većim količinama u tumorskim stanicama u odnosu na normalne stanice (1).

Više vezanih molekula lijeka na protutijelo ne znači nužno i snažnije djelovanje. Optimalni broj molekula lijeka koje će se vezati na protutijelo, pri čemu se postiže maksimalni specifični učinak, mora se odrediti eksperimentalno za svaku kombinaciju protutijela i citostatika (1).

## Konjugati protutijelo – citostatik:

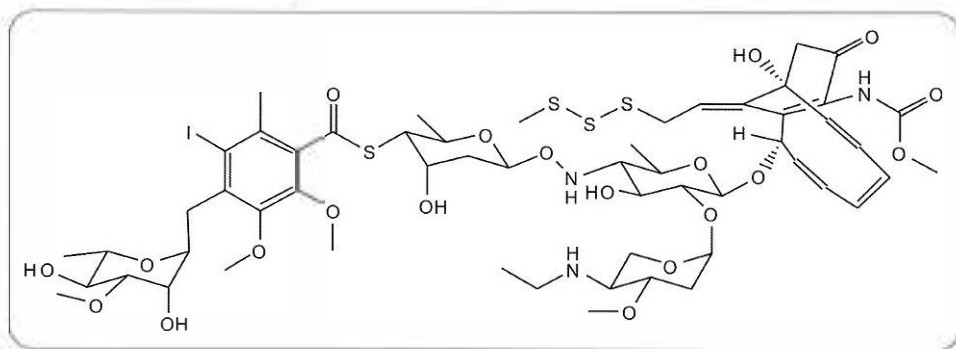
### 1. Gemtuzumab ozogamicin

Gemtuzumab ozogamicin konjugat je humaniziranog monoklonskog protutijela i citostatika kaliheamicina (slika 2.), izoliranog iz bakterije. Kada konjugat protutijelo – lijek dođe do ciljane stanice, protutijelo se veže na CD33 antigen. Konjugat endocitozom ulazi



u stanicu te u lizosomima ili endosomima dolazi do pucanja veze između lijeka i protutijela. Aktivacija kaliheamicina događa se u staničnoj jezgri, nakon čega lijek vezanjem na manji utor DNA molekule uzrokuje njezino cijepanje (2).

Gemtuzumab ozogamicin jedini je konjugat protutijela i citostatika, koji je dobio odobrenje za stavljanje u uporabu u klinici (15). Rabio se u terapiji akutne mijeloične leukemije od 2000. Pfizer je 2010. dobrovoljno povukao lijek s tržišta, jer su kliničke studije pokazale da kombinacija gemtuzumab ozogamicina i kemoterapije povećava učestalost smrtnih slučajeva u odnosu na samu kemoterapiju te da nema prednosti pred konvencionalnim terapijama (16).



Slika 2. Kaliheamicin

## 2. Inotuzumab ozogamicin

Inotuzumab ozogamicin također je kompleks kaliheamicina i humaniziranog monoklonskoga protutijela, koje u tom slučaju cilja antigen CD22 (slika 2.). Sada je u kliničkim studijama za liječenje ne-Hodginovog limfoma i difuznog limfoma velikih B-stanica (15, 17).

## 3. Trastuzumab emtansin (trastuzumab-DM1)

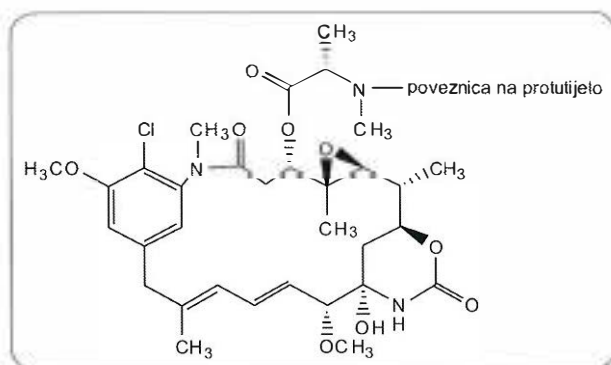
Receptor 2 humanog epidermalnog faktora rasta (HER2 ili ErbB2) za tirozin kinazu transmembranski je receptor i član EGFR obitelji receptora te igra važnu ulogu u razvoju tumora. Pretjerano je eksprimiran u 25% slučajeva karcinoma dojke (1–2 milijuna kopija po stanici), dok ga normalne epitelne stanice slabo eksprimiraju (15, 18).

Trastuzumab (Herceptin/Roche) humanizirano je monoklonsko protutijelo koje se specifično veže na izvanstanični dio HER2, pri čemu dolazi do interferencija u staničnom signaliziranju, oštećenja HER2 receptora i njegove internalizacije, sprječava se popravak DNA, inhibira angiogeneza, inducira se stanični arrest i citotoksičnost ovisna o protutijelu (19).

Dio pacijenata s HER2 pozitivnim karcinomom dojke ne odgovara na terapiju trastuzumabom ili nakon početnog odgovora brzo nastupa remisija. No, tumorske stanice rezistentne na trastuzumab i dalje eksprimiraju HER2 u velikom broju kopija, zbog čega

je razvijen konjugat trastuzumaba i citostatika DM1 iz skupine maitansinoida, trastuzumab emtansin (18, 20).

Maitansinoid DM1 (slika 3.) vrlo je snažan citostatik, 100 do 10000 puta jačeg djelovanja od uobičajenih citostatika te je pretoksičan da bi se mogao primjenjivati kao monoterapija (15). Nakon vezanja protutijela na HER2, dolazi do internalizacije konjugata i njegove proteolitičke degradacije u lizosomima, pri čemu se otpušta aktivni lijek (18). DM1 inhibicijom polimerizacije mikrotubula uzrokuje zaustavljanje diobe i smrt stanice (21).



Slika 3. Maitansinoid DM1

U srpnju 2010. Genentech je predao FDA zahtjev za ubrzan postupak za registraciju trastuzumab emtansina (15), međutim on je odbijen te je lijek i dalje u kliničkom ispitivanju (faza III) za terapiju HER2 pozitivnog karcinoma dojke (15, 17).

#### 4. Lorvotuzumab mertansin

Lorvotuzumab mertansin također je konjugat citostatika maitansinoida DM1 i humaniziranoga monoklonskog protutijela specifičnog za CD56 antigen. Nalazi se u fazi II kliničkih ispitivanja za terapiju karcinoma jajnika, pluća – malih stanica, Merkelovih stanica i multiplog mijeloma (17).

#### 5. SAR-3419

SAR-3419 još je jedan konjugat citostatika iz skupine maitansinoida, DM4 i humaniziranoga protutijela koje cilja CD19 antigen. Sada se ispituje njegova učinkovitost u liječenju ne-Hodginovog limfoma (faza II kliničkih studija) (17).

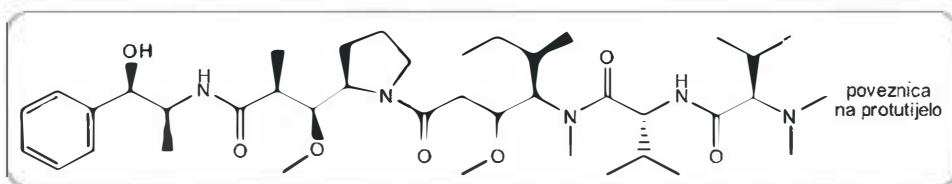
#### 6. Brentuksimab vedotin

Brentuksimab vedotin konjugat je sintetskog citostatika monometilauristatina E i kimernog monoklonskog protutijela, koji cilja CD30 antigene malignih stanica Hodgkinovog limfoma i anaplastičnog limfoma velikih stanica (22). Antigen CD30 osobito je pogodan za imunološku terapiju karcinoma, jer je njegova ekspresija uglavnom ograničena na maligne stanice navedenih limfoma (22, 23). Nakon vezanja protutijela, dolazi do



internalizacije kompleksa antigen – konjugat i otpuštanja aktivnog lijeka u stanici djelovanjem lizosomalnih enzima. Monometilauristatin E veže se na mikrotubule i uzrokuje smrt stanice indukcijom apoptoze (23).

U veljači 2011. predan je zahtjev FDA za odobrenje za registraciju brentuksimab vedotina za liječenje Hodginovog limfoma i anaplastičnog limfoma velikih stanica (24).



Slika 4. Monometilauristatin E

## 7. Glembatumumab vedotin

Glembatumumab vedotin konjugat je monometilauristatina E i humanog protutijela specifičnog za transmembranski glikoprotein NMB te se ispituje za liječenje metastatskog karcinoma dojke i melanoma (15).

## ANTITUMORSKE TERAPIJE KOMBINACIJE PROTUTIJELA, PROLIJEKA CITOSTATIKA I ENZIMA

U te terapije ubrajamo ADEPT (kombinacija prolijeka i protutijelom usmjerenog enzima) i ADAPT (kombinacija prolijeka i protutijelom usmjerenog abzima). GDEPT (kombinacija prolijeka i genski usmjerenog enzima) pristup je liječenju tumora koji ne uključuje protutijela, ali je naveden radi usporedbe. Sva tri pristupa nalaze se u pretkliničkim ili ranim kliničkim fazama.

### 1. ADEPT (*antibodydirected enzyme prodrug therapy*)

ADEPT zbiva se u dva koraka. Prvi je korak primjena konjugata protutijela i nekog enzima i njegovo selektivno vezanje na antigen na tumorskoj stanici. Za razliku od konjugata protutijela i citostatika, taj konjugat mora ostati vezan na površini stanice. U sljedećem se koraku primjenjuje prolijek nekog citotoksičnog lijeka, koji se dizajnira tako da bude stabilan u krvnoj plazmi te da se aktivira ranije spomenutim enzimom. Kada citotoksični prolijek dođe do stanica tumora, aktivira se, ulazi u stanice i u njima izražava svoje djelovanje (25).

Vremenski razmak između primjene konjugata protutijelo – enzim i prolijeka bitan je za uspješan ADEPT. Mora biti osigurano dovoljno vremena za vezanje konjugata na tumorske stanice, ali i da koncentracija nevezanog konjugata u plazmi padne na dovoljno nisku razinu, jer će se inače prolijek aktivirati u plazmi. Međutim, što je vremenski razmak dulji, veći su izgledi za smanjivanje koncentracije konjugata protutijelo – enzim na tumorskim stanicama. Taj se problem može riješiti ADEPT-om u tri koraka. Nakon

primjene konjugata protutijelo – enzim, primjenjuje se drugo protutijelo, koje cilja nevezani konjugat i ubrzava njegovo uklanjanje iz plazme. U trećem se koraku primjenjuje prolijek nekog citostatika (25).

Jedna je od prednosti tog pristupa mogućnost primjene prolijeka citostatika u visokim dozama, jer će do generiranja aktivnog lijeka doći samo na željenom mjestu djelovanja – tumoru. Tako se mogu postići više terapijske koncentracije, nego kada se primjenjuje sam citostatik (26). Nakon aktivacije, lijek može difundirati u tumor i djelovati i na stanice na koje se konjugat protutijelo – enzim nije vezao.

Prolijekovi se mogu dizajnirati kao supstrati za bakterijske, odnosno organizmu nepoznate, ili humane enzime. Prednost je bakterijskih enzima u tome što nisu prisutni u stanicama sisavaca pa nema ni mogućnosti aktivacije prolijeka enzimima sisavaca. Budući da je enzim organizmu nepoznati protein, može doći do imunološke reakcije na konjugat protutijela i enzima, zbog čega bi primjena humanih enzima mogla biti preferirana. No, primjena humanih enzima povećava i rizik od aktivacije prolijeka u plazmi (25).

## 2. ADAPT (*antibody-directed abzyme prodrug therapy*)

ADAPT uključuje primjenu prolijekova citostatika i abzima, specijalnih protutijela s katalitičkom funkcijom. Prolijekovi citostatika dizajniraju se kao antigeni za abzime. Nakon vezanja prolijeka abzimi kataliziraju njegovu pretvorbu u aktivnu molekulu (27). U tom obliku terapije protutijelo cilja prolijek, a ne tumorsku stanicu te se na taj način lijekovi ne mogu usmjeriti na tumorske stanice. Zbog toga se dizajniraju hibridna protutijela, čiji bi jedan dio trebao prepoznati antigene na stanici tumora, a drugi dio prolijek te bi do aktivacije moglo doći samo na tumorskoj stanici (25).

Prednost je ADAPT-a prema ADEPT-u u mogućnosti dizajniranja katalitičkih mehanizama, koji se u prirodi ne događaju pa bi se mogla postići visoko selektivna aktivacija prolijekova. Isto tako, budući da se ne rabe strani enzimi, rizik od imunološkog odgovora organizma je uklonjen (2).

## 3. GDEPT (*gene-directed enzyme prodrug therapy*)

GDEPT zahtijeva selektivnu dostavu gena za strani enzim, koji omogućuje transformaciju prolijeka u aktivni lijek, u tumorsku stanicu. Nakon ulaska prolijeka u tumorsku stanicu dolazi do njegove aktivacije djelovanjem enzima. Budući da enzim nije prisutan u normalnim stanicama, a niti gen nije tamo dostavljen, prolijek se u njima ne može aktivirati. Prednost je GDEPT-a pred ADEPT-om generiranje enzima nepoznatih organizmu unutar stanica pa ne može doći do imunološkog odgovora (25, 28).

Najveći je problem u GDEPT-u selektivna dostava gena u tumorsku stanicu. Mogu se primjenjivati viralne DNA ili RNA, RNAi, kationski lipidi i peptidi. Nije vjerojatno da će sve tumorske stanice dobiti gen neophodan za aktivaciju prolijeka pa je zbog toga važno da se aktivni lijek može prenijeti između tumorskih stanica. To se može postići otpuštanjem aktiviranog lijeka iz inficirane stanice, izravnim prenošenjem kroz intercelularne pukotine ili otpuštanjem vezikula s lijekom nakon smrti tumorske stanice (2).

## ZAKLJUČAK

Unatoč velikom napretku u medicini i naporima znanstvenika diljem svijeta, karcinom je još bolest za koju nema potpuno učinkovite terapije. Često se javlja rezistencija na poznate lijekove te potraga za novim lijekovima i terapijama ima veliku važnost. Uporaba protutijela i konjugata protutijelo – citostatik u protutumorskoj terapiji, jedan je od novijih načina borbe s tom bolešću. Njihova je najvažnija prednost selektivnost djelovanja na tumorske stanice s pretjerano eksprimiranim antigenom, zbog čega bi se toksičnost lijeka trebala smanjiti u odnosu na konvencionalne citostatike.

## SAŽETAK

Glavni je problem u terapiji tumora neselektivno djelovanje citotoksičnih lijekova, zbog čega imaju brojne nuspojave. Moguće je rješenje toga problema uklapanje lijekova u liposome te vezanje na polimere ili protutijela. Monoklonska protutijela protiv antigena vezanih iz tumor ili tumor – specifičnih antigena imaju značajno protutumorsko djelovanje i rutinski se rabe u terapiji tumora (rituksimab, alemtuzumab, trastuzumab, bevacizumab, cetuksimab). Protutijela bi se također mogla rabiti za ciljanu terapiju tumora pripravljanjem prolijeka, odnosno konjugata protutijelo – citostatik, koji bi osiguravao selektivnu dostavu i otpuštanje citotoksičnog lijeka u tumorskoj stanici. Neke eksperimentalne terapije uključuju prolijek citotoksičnog lijeka u kombinaciji s enzimom (ADEPT) ili abzimom (ADAPT) te selektivnu dostavu gena tumorskoj stanici (GDEPT – kombinacija prolijeka i genski usmjerenog enzima)

## Antibodies in targeted tumor therapy

by Z. Rajić

### Abstract

The main problem in cancer chemotherapy is non-selective action of cytotoxic drugs, which leads to many side-effects. The problem could be solved by incorporation of drugs into liposomes, or attaching them to polymers or antibodies. Monoclonal antibodies against tumor selective/specific antigens have significant anticancer activity on their own and are routinely used in the cancer therapy (rituximab, alemtuzumab, trastuzumab, bevacizumab, cetuximab). Antibodies could also be used to target highly cytotoxic drugs to tumor cells by preparing prodrugs, antibody-drug conjugates, which ensure selective delivery and release of the cytotoxic drug within the cancer cell. Some experimental therapies also include a prodrug of some cytotoxic drug in a combination with an enzyme (ADEPT – antibody directed enzyme prodrug therapy), an abzyme (ADAPT – antibody-directed abzyme prodrug therapy) or selective gene delivery to the cancer cell (GDEPT – gene-directed enzyme prodrug therapy).

## Literatura – References

1. Schrama D, Reisfeld RA, Becker JC. Antibody targeted drugs as cancer therapeutics. *Nat Rev Drug Discov.* 2006; 5: 147–159.
2. Patrik GL. An introduction to medicinal chemistry. Oxford: Oxford University Press, 2010.
3. MSD priručnik dijagnostike i terapije, Split: Placebo d.o.o., 2000.
4. Oldham RK, Dillman RO. Monoclonal antibodies in cancer therapy: 25 years of progress. *J Clin Oncol.* 2008; 11: 1774–1176.
5. Lipman NS, Jackson LR, Trudel LJ, Weis-Garcia F. Monoclonal versus polyclonal antibodies: distinguishing characteristics, applications, and information resources. *ILAR J.* 2005; 46: 258–268.
6. Dicricx D, Delannoy A, Saja K, Verhoef G, Provan D. Anti-CD20 monoclonal antibodies and their use in adult autoimmune hematological disorders. *Am J Hematol.* 2011; 86: 278–291.
7. Nelson AL, Dhimolea E, Reichert JM. Development trends for human monoclonal antibody therapeutics. *Nat Rev Drug Discov.* 2010; 9: 767–774.
8. Hansel TT, Kropshofer H, Singer T, Mitchel JA, George AJT. The safety and side effects of monoclonal antibodies. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9: 325–338.
9. Fontoura P. Monoclonal antibody therapy in multiple sclerosis: Paradigm shifts and emerging challenges. *MAbs.* 2010; 2: 670–681.
10. Lemke TL, Williams DA. Foye's principles of medicinal chemistry. 5. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer / Lippincot Williams & Wilkins, 2008.
11. Belda Iniesta C, Ibañez de Cáceres I, de Castro J. Monoclonal antibodies for medical oncology: a few critical perspectives. *Clin Transl Oncol.* 2011; 13: 84–87.
12. Dillman RO. Magic Bullets at last! Finally – approval of a monoclonal antibody for the treatment of cancer!!! *Cancer Biother Radiopharm.* 1997; 12: 223–225.
13. <http://en.wikipedia.org/wiki/Rituximab>, datum pristupa: 29.6.2011.
14. <http://www.rxlist.com/rituxan-drug.htm>, datum pristupa: 29.6.2011.
15. Hughes B. Antibody-drug conjugates for cancer: poised to deliver. *Nat Rev Drug Discov.* 2010; 9: 665–667.
16. [http://en.wikipedia.org/wiki/Gemtuzumab\\_ozogamicin](http://en.wikipedia.org/wiki/Gemtuzumab_ozogamicin), datum pristupa: 9.3.2011.
17. Beck A, Haeuw JF, Wurch T, Goetsch L, Bailly C, Corvaia N. The next generation of antibody drug conjugates comes of age. *Discov Med.* 2010; 53: 329–339.
18. Lewis Phillips GD, Li Guangmin, Dugger DL, Crocker LM, Parsons KL, Mai E, Blättler WA, Lambert JM, Chari RVJ, Lutz RJ, Wong WLT, Jacobson FS, Koeppe H, Schwall RH, Kenkare-Mitra SR, Spencer SD, Sliwkowski MX. Targeting HER2-positive breast cancer with Trastuzumab-DMI, an antibody-cytotoxic drug conjugate. *Cancer Res.* 2008; 68: 9280–9290.
19. Hudis CA. Trastuzumab-mechanism of action and use in clinical practice. *N Engl J Med.* 2007; 357: 39–51.
20. [http://www.immunogen.com/wt/page/trastuzumab\\_DMI](http://www.immunogen.com/wt/page/trastuzumab_DMI), datum pristupa: 11.3.2011.

21. Lopus M, Oroudjev E, Wilson L, Wilhelm S, Widdison W, Chari R, Jordan MA. Maytansine and Cellular Metabolites of Antibody-Maytansinoid Conjugates Strongly Suppress Microtubule Dynamics by Binding to Microtubules. *Mol Cancer Ther.* 2010; 9: 2689-2699.
22. Trial watch: antibody drug conjugate shows efficacy in lymphoma. *Nat Rev Drug Discov.* 2011; 10: 86.
23. Oflazoglu E, Kissler KM, Sievers EL, Grewal IS, Gerber HP. Combination of the anti-CD30-auristatin-E antibody-drug conjugate (SGN-35) with chemotherapy improves antitumour activity in Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol.* 2008;142: 69-73.
24. [http://www.scagen.com/clinical\\_trials\\_sgn35.shtml](http://www.scagen.com/clinical_trials_sgn35.shtml), datum pristupa: 8.3.2011.
25. Dubowchik GM, Walker MA. Receptor mediated and enzyme-dependent targeting of cytotoxic anticancer drugs. *Pharmacol Therap.* 1999; 83: 67-123.
26. Svensson HP, Vruthula VM, Emswiler JE, Macmaster JF, Cosand WL, Senter PD, Wallace PM. *In vitro* and *in vivo* activities of a doxorubicin prodrug in combination with monoclonal antibody beta-lactamase conjugates. *Cancer Res.* 1995; 55: 2357-2365.
27. Wentworth PT, Datta A, Blakey D, Boyley T, Partridge LJ, Blackburn GM. Toward antibody-directed «abzyme» prodrug therapy, ADAPT: Carbamate prodrug activation by a catalytic antibody and its *in vitro* application to human tumor cell killing. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996; 93: 799-803.
28. <http://www.oxfordbiomedica.co.uk>, datum pristupa: 12.3.2011.

Priljeno 15. travnja 2011.