

# Inovativne metode liječenja u onkologiji

---

**Herceg, Dragana**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2024**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, Faculty of Science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:166:844802>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-19**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Science](#)



Sveučilište u Splitu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Odjel za kemiju

Dragana Herceg

**INOVATIVNE METODE LIJEČENJA  
U ONKOLOGIJI**

Split, 2024.

Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Odjel za kemiju

Dragana Herceg

**INOVATIVNE METODE LIJEČENJA  
U ONKOLOGIJI**

Split, 2024.

Ovaj rad izrađen u Splitu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Stjepana Orhanovića, predan je na ocjenu Odjelu za kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Splitu radi stjecanja zvanja prvostupnik/prvostupnica biologije i kemije

## **ZAHVALA**

*Zahvaljujem se svom mentoru izv. prof. dr. sc. Stjepanu Orhanoviću na vodstvu i savjetima tijekom pisanja ovoga rada kao i svim profesorima na fakultetu koji su me pratili do ovog trenutka.*

*Posebno se zahvaljujem svojoj obitelji na podršci i motivaciji da ostvarim svoje snove kao i prijateljima koji su bili uz mene na ovom putu.*

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Splitu

Završni rad

Prirodoslovno – matematički fakultet

Odjel za kemiju

Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

### INOVATIVNE METODE LIJEČENJA U ONKOLOGIJI

Dragana Herceg

U svijetu svakodnevno mnogi pacijenti gube bitku protiv malignih bolesti što onkologiju stavlja pred brojne i teške izazove. Imunoterapija i pametni lijekovi predstavljaju napredne metode u liječenju raka koje u odnosu na tradicionalne metode kao što su kemoterapija i radioterapija umanjuju oštećenja okolnog zdravog tkiva. Imunoterapija potiče imunološki sustav da prepozna i uništi stanice raka, a vrste imunoterapije koje se primjenjuju su: aktivna, pasivna i adoptivna imunoterapija. Pametni lijekovi djeluju specifično na molekularne promjene unutar tumorskih stanica, a u ovu skupinu ubrajamo inhibitore topoizomeraza, inhibitore telomeraza i anti-angiogenetske lijekove. Unatoč nuspojavama ovih metoda njihov doprinos u liječenju onkoloških bolesnika je značajna promjena u onkologiji i znanosti općenito. Ove metode nude specifičniji pristup liječenju svakog pacijenta ovisno o njegovom zdravstvenom stanju te povećavaju učinkovitost liječenja pacijenata s različitim vrstama raka.

**Ključne riječi:** rak, imunoterapija, pametni lijek

Rad je pohranjen u knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilište u Splitu.

**Rad sadrži:** 21 stranicu, 10 grafičkih prikaza i 9 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

**Mentor:** Dr. sc. Stjepan Orhanović, izvanredni profesor

**Ocjenjivači:** Dr. sc. Stjepan Orhanović, izvanredni profesor

Dr. sc. Viljemka Bučević - Popović, izvanredni profesor

Dr. sc. Barbara Soldo, docent

Rad prihvaćen:

## Basic documentation card

University of Split

B. Sc. Thesis

Faculty of Science

Department of Chemistry

Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

### INNOVATIVE TREATMENT METHODS IN ONCOLOGY

Dragana Herceg

Around the world, many patients lose their battle against malignant diseases every day, posing numerous and difficult challenges for oncology. Immunotherapy and smart drugs are advanced methods of cancer treatment that cause less damage to surrounding healthy tissue compared to conventional methods such as chemotherapy and radiotherapy. Immunotherapy stimulates the immune system to recognize and destroy cancer cells. The types of immunotherapy used include active, passive and adoptive immunotherapy. Smart drugs specifically target molecular changes in tumor cells, such as topoisomerase inhibitors, telomerase inhibitors and anti-angiogenic drugs. Despite the side effects of these methods, their contribution to the treatment of cancer patients is significant and has transformed oncology and science in general. These methods provide a customized approach to treating each patient based on their individual health status and increase the effectiveness of treatment for patients with different types of cancer.

**Keywords:** cancer, immunotherapy, smart drugs

Thesis deposited in the library of Faculty of Science, University of Split.

**Thesis consist of:** 21 pages, 10 figures and 9 references. Original in: Croatian.

**Mentor:** Stjepan Orhanović, Ph.D., Associate professor

**Reviewers:** Stjepan Orhanović, Ph.D., Associate professor

Viljemka Bučević – Popović, Ph.D., Associate professor

Barbara Soldo, Ph.D., Assistant professor

Thesis accepted:

1. UVOD.....	1
1.1. Biologija raka.....	1
1.2. Molekularna dijagnostika i vrste raka .....	2
2. IMUNOTERAPIJA.....	4
2.1. Uloga imunološkog sustava .....	4
2.2. Začetak imunoterapije .....	5
2.3. Vrste imunoterapije.....	5
2.3.1. Aktivna imunoterapija .....	6
2.3.2. Pasivna imunoterapija.....	8
2.3.3. Adoptivna imunoterapija .....	9
2.4. Nuspojave imunoterapije .....	10
3. PAMETNI LIJEKOVI .....	11
3.1. Lijekovi u onkologiji.....	11
3.2. Otkriće pametnog lijeka .....	11
3.3. Inhibitori topoizomeraza.....	12
3.4. Inhibitori telomeraza .....	14
3.5. Anti-angiogenetski lijekovi .....	15
3.6. Gensko testiranje u onkologiji .....	18
3.7. Nuspojave pametnih lijekova.....	19
4. ZAKLJUČAK.....	20
5. LITERATURA .....	21



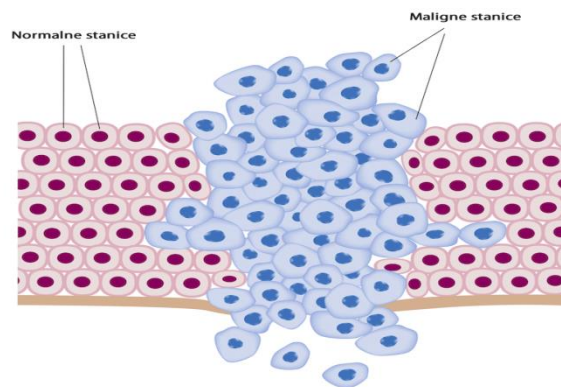
# 1. UVOD

Onkologija kao jedna od ključnih grana medicine koja se bavi proučavanjem, dijagnostikom i liječenjem raka, suočava se s izazovima zbog složenosti malignih oboljenja te neprestanog rasta broja onkoloških bolesnika. Tradicionalne metode liječenja poput kirurških zahvata, kemoterapije i radioterapije unatoč svojoj učinkovitosti često su povezane s brojnim nuspojavama te su kao metode liječenja vrlo ograničene uspješnosti kod naprednih stadija raka. U posljednjih nekoliko desetljeća, znanstvena postignuća dovela su do razvoja inovativnih metoda liječenja u onkologiji među kojima su najistaknutije imunoterapija i terapija pametnim lijekovima koje omogućuju precizniji pristup liječenju raka. Kombinacija pametnih lijekova i imunoterapije predstavlja daljnji korak prema tzv. preciznoj medicini, gdje se liječenje temelji na individualnim karakteristikama pacijenta i njegovog tumora. Iako su ove metode u liječenju vrlo učinkovite postoje brojni izazovi kao što su otpornost na lijekove, nuspojave i visoki troškovi. Stoga, istraživanje brojnih prednosti i nedostataka primjene imunoterapije i ciljane terapije tj. pametnih lijekova u liječenju onkoloških bolesnika omogućuje revolucionarna poboljšanja u modernoj onkologiji.

## 1.1. Biologija raka

Zdrave ljudske stanice se dijele kontrolirano te ukoliko dođe do oštećenja aktiviraju se mehanizmi za popravak ili ako se radi o teškom oštećenju stanice ulaze u apoptozu (programiranu staničnu smrt). Zbog određenih promjena procesom zloćudne pretvorbe od zdravih stanica nastaju stanice raka koje imaju sposobnost nekontrolirane diobe (Slika 1.). Do takvih promjena dolazi uglavnom zbog mutacija u genomu stoga je rak u osnovi genska bolest. Mutacije odgovorne za nastanak raka mogu se naslijediti, ali uglavnom nastaju u somatskim stanicama zbog djelovanja određenih mutagena ili uslijed grešaka pri replikaciji DNA. Mutacije u stanicama raka se dijele na pokretačke i usputne. Pokretačke mutacije se događaju u genima povezanim s nastankom raka, a to su onkogeni i tumorsupresorski geni. Usputne mutacije nisu povezane s nastankom raka, smatra se da su one posljedica genomske nestabilnosti. Onkogeni su izmijenjeni normalni stanični geni (protoonkogeni) koji sudjeluju u regulaciji stanične diobe i diferencijacije. Ako dođe do takve promjene u protoonkogenima da oni ili njihovi proteinski produkti postanu aktivniji radi se o procesu aktivacije onkogeni

čija je posljedica nekontrolirani rast i dioba stanica odnosno nastanak raka. Tumorsupresorski geni su geni koji uzrokuju rak ukoliko dođe do gubitka ili inaktivacije njih samih ili njihovih produkata. Mutacije tumorsupresorskih gena uglavnom su recesivne stoga je potrebna inaktivacija obaju alela da bi se postigao njihov učinak. Osim genetskih faktora na razvoj raka utječu i faktori okoline odnosno izloženost kancerogenim supstancama (zračenje, duhanski proizvodi, infekcije različitim mikroorganizmima itd.) (Vrdoljak i sur., 2018.).



Slika 1. Prikaz normalnih i malignih stanica

(Preuzeto s: <https://www.onkologija.hr/sto-je-rak/>)

## 1.2. Molekularna dijagnostika i vrste raka

Molekularna dijagnostika koristi se za detekciju tumora u klinički i radiološki nedektabilnoj fazi te kod ispitivanja pacijenata s predispozicijom za razvoj određenih tipova raka. Klasična metoda u molekularnoj dijagnostici onkoloških stanja je lančana reakcija polimeraze (PCR tehnika), a osim ove metode razvila se i inovativna DNA čip-tehnologija koja će u budućnosti omogućiti da se na osnovi analize genskog profila predvidi prognoza i tijek bolesti. Laboratorijska dijagnostika otkriva tumorske biljege i mnoge druge parametre čije su promjene specifične za zloćudne bolesti. Tumorski biljezi su molekule čije pojavljivanje upućuje na nastanak ili rast zloćudnog tumora, a stvara ih sam tumor ili domaćin kao produkt reakcije na tumor te služe za praćenje samog tijeka bolesti.

U onkologiji postoji nekoliko klasifikacija tumora. Na osnovu karakteristika, ponašanja i potencijala za širenje i oštećenje tkiva razlikuju se dobroćudni (benigni) i zloćudni (maligni) tumori.

Benigni tumori su ograničenog rasta i ne prodiru u okolna tkiva niti metastaziraju u udaljene dijelove tijela, stanice dobroćudnih tumora su slične normalnim stanicama te su često dobro diferencirane što rak čini manje agresivnim.

Maligni tumori rastu brzo i nekontrolirano, prodiru u okolna tkiva te imaju sposobnost metastaziranja. Stanice zloćudnih tumora su abnormalne i slabo diferencirane.

Također, onkolozi unutar grupe bolesti koja se jednim imenom naziva rak razlikuju solidne i hematološke tumore. Solidni tumori tvore izrasline te u tu skupinu spadaju karcinomi i sarkomi. Karcinomi su najčešći tipovi raka koji potječu od stanica epitelnog tkiva. Neki od učestalih karcinoma su: rak dojke, rak pluća, rak prostate te rak debelog crijeva. Sarkomi potječu od stanica mezenhinskog tkiva, rjeđi su tip bolesti. Primjeri su: osteosarkom (tip raka kostiju) te liposarkom (rak masnog tkiva). Hematološki tumori potječu iz krvnih stanica ili krvotvornih tkiva (koštana srž, limfni sustav). U ovu skupinu tumora spadaju leukemije i limfomi (Vrdoljak i sur., 2018.).

## 2. IMUNOTERAPIJA

### 2.1. Uloga imunološkog sustava

Odnos imunološkog sustava i raka je dvosmjernan. Imunološki sustav ima ključnu ulogu u prepoznavanju i uništavanju abnormalnih, tumorskih stanica. Međutim, tumorske stanice imaju sposobnost razvijanja različitih mehanizama pomoću kojih izbjegavaju imunološki nadzor. Na površini tumorskih stanica prisutne su molekule pod nazivom tumorski antigeni koje imunološki sustav može prepoznati kao strane molekule. Ekspimiranje tih antigena potiče imunoreakciju u pacijentovom organizmu. Do danas je otkriven veliki broj tumorskih antigena, a klasificirani su u dvije vrste: tumorski specifični antigeni i tumorima pridruženi antigeni. Tumorski specifični antigeni su prisutni isključivo na tumorskim stanicama, a tumorima pridruženi antigeni su prisutni i na normalnim stanicama dok su u tumorskim stanicama abnormalno ekspimirani. Glavnu ulogu u imunosnom odgovoru organizma na rak imaju citotoksični (CD8+) limfociti T koji prepoznaju većinu do danas otkrivenih tumorskih antigena. Zreli citotoksični limfociti T koji imaju sposobnost uništavanja ciljne stanice nastaju aktivacijom nativnih T limfocita. Aktivacija se odvija prepoznavanjem antigena u kompleksu s molekulama MHC (molekule tkivne podudarnosti) koje im na svojoj membrani predočavaju stanice za predočivanje antigena, uglavnom dendritične stanice. U tom procesu prepoznavanja antigena i aktivacije limfocita T dolazi do aktivacije inhibicijskih mehanizama npr. kroz inhibicijski receptor CTLA4. Za samu aktivaciju citotoksičnih limfocita T bitni su i pomagački (CD4+) limfociti T koji aktiviraju NK-stanice (natural killer, prirodne stanice ubojice) i makrofage. NK-stanice imaju sposobnost uništavanja stanica raka bez prethodnog predočavanja tumorskih antigena u kompleksu s molekulama MHC. Iako su otkriveni mnogi tumorski antigeni koji mogu potaknuti imunoreakciju, imunološki sustav sam po sebi nije sposoban zaustaviti rast i širenje raka. Također, otkriveni su brojni mehanizmi s pomoću kojih stanice raka zaobilaze imunoreakciju: rak može smanjiti i čak u potpunosti inhibirati ekspresiju tumorskih antigena, u stanicama raka može se smanjiti ili inhibirati ekspresija molekula MHC I koje omogućavaju predočavanje antigena citotoksičnim limfocitima T, stanice raka izlučuju određene imunosupresijske citokine (TGF- $\beta$ , IL-10) koje direktno sprječavaju imunoreakciju organizma protiv raka te stanice raka često na svojoj membrani ekspimiraju molekule PD-L1 koje se vežu za inhibicijske receptore PD1 na membrani T limfocita i tako stopiraju njihovu aktivnost. Napredak u razumijevanju interakcije

imunološkog sustava i raka doveo je do razvoja jedne od metoda liječenja, imunoterapije (Vrdoljak i sur., 2018.).

## **2.2. Začetak imunoterapije**

Imunoterapija (biološka terapija) je inovativna terapijska metoda u onkologiji koja zauzima važno mjesto u liječenju raka. Ova metoda upotrebljava sposobnost imunološkog sustava da prepozna i uništi stanice raka. Razvoj imunoterapije temelji se na poznavanju imunologije i molekularne biologije što je dovelo do nastanka terapijskih strategija koje poboljšavaju prirodne obrambene mehanizme ljudskog organizma. Krajem 19. i početkom 20. stoljeća američki kirurg William Coley je istraživao mogućnost liječenja raka bakterijskim infekcijama. Kod svojih pacijenata uočio je poveznicu između erizipela i povlačenja tumorskih stanica. Erizipel je akutna bakterijska infekcija kože i potkožnog tkiva koju uglavnom uzrokuje bakterija *Streptococcus pyogenes*. Coley je eksperiment proveo tako što je kod pacijenta inducirao razvoj infekcije što je dovelo do smanjenja te nakon nekog vremena i potpunog nestanka tumora. Coleyevi toksini su smjesa toplotom ubijenih sojeva bakterija *Streptococcus pyogenes* i *Serratia marcescens* koja predstavlja početak uporabe imunoterapije u liječenju onkoloških pacijenata. U Coleyevu vrijeme ovaj eksperiment nije bio prihvaćen zbog nedostatka kliničkih ispitivanja, a razvojem radioterapije i kemoterapije interes za Coleyevu toksine je u potpunosti nestao. Danas, zahvaljujući napretku u medicinskim istraživanjima dokazana je učinkovitost imunoterapije u liječenju raka, a temelj ove metode je upravo eksperiment Williama Coleya (McCarthy, 2006.).

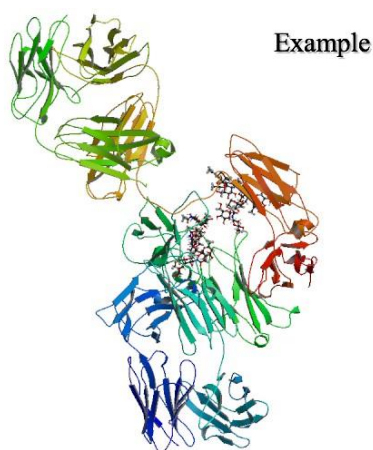
## **2.3. Vrste imunoterapije**

Imunoterapija koristi imunološki sustav u borbi protiv raka, a s obzirom na puteve djelovanja i učinak imunološkog sustava u organizmu klasificira se na: aktivnu imunoterapiju, pasivnu imunoterapiju i adoptivnu imunoterapiju.

### 2.3.1. Aktivna imunoterapija

Aktivna imunoterapija koristi sposobnost imunološkog sustava da prepozna i uništi stanice raka. Dijeli se na: aktivnu specifičnu imunoterapiju i aktivnu nespecifičnu imunoterapiju. Cijepljenje je oblik aktivne specifične imunoterapije za koji je karakteristično izlaganje tumorskih biljega imunološkom sustavu, poticanje diferencijacije te stvaranje imunskih stanica i protutijela čime se sprječava širenje raka. Za imunizaciju se koriste ozračene autologne (tumorske stanice koje potječu od pacijenta kojeg se liječi) i alogene tumorske stanice (tumorske stanice koje potječu od donora različitog od pacijenta) te tumoru pridruženi biljezi. Materijal za imunizaciju nastaje biopsijom ili resekcijom solidnih tumora, odnosno odvajanjem leukemičnih stanica iz krvi. Stanice tumorskih staničnih linija koje su uzgojene in vitro također se koriste za imunizaciju. Tumorski biljezi se izoliraju iz kulture tumorskih staničnih linija u svrhu imunizacije. Cijepljenje se u onkologiji obično primjenjuje preventivno ili u posebnim slučajevima tijekom liječenja raka. Primjeri cjepiva koja se koriste kod liječenja onkoloških bolesnika su: talimogen laherparepvec te rekombinantna HPV cjepiva. Talimogen laherparepvec cjepivo je genetički modificiran herpesvirus (onkolitički herpesvirus) kod kojeg su isključeni geni za izbjegavanje imunskog odgovora te je dodan gen za čimbenik rasta kolonija granulocita-monocita (GM-CSF). Uglavnom se primjenjuje direktno u tumore putem injekcije što dovodi do lokalnog djelovanja virusa odnosno uništavanja tumorske stanice. Koristi se najčešće u liječenju melanoma kod pacijenata koji nisu kandidati za kirurško uklanjanje tumora. Rekombinantna HPV koriste se za prevenciju infekcije HPV virusima (tipovi 6, 11, 16, 18). Tipovi 16 i 18 uzročnici su više od 70% tumora spolnog sustava. Za ovu vrstu cjepiva preporučuje se primjena prije adolescencije iako se cijepljenje može provesti i kod spolno aktivnih osoba. Zadovoljavajuća imunost postiže se 3 mjeseca nakon cijepljenja. Cjepivo se inicijalno primjenjivalo u tri navrata, ali novija istraživanja pokazuju da je dostatna i dvokratna primjena cjepiva. Anti-HPV cjepivo gotovo u potpunosti smanjuje učestalost pojave prekancerogenih lezija vrata maternice kojima je uzrok HPV virus. Imunostimulirajuća terapija sipuleucelom noviji je pristup u liječenju raka prostate. Postupak liječenja je izuzetno zahtjevan, a sastoji se od 3 faze. U prvoj fazi se iz pacijenta izoliraju bijele krvne stanice, primarno antigen prezentirajuće stanice te se u drugoj fazi spajaju s antigenom kisele prostatične fosfataze i čimbenika rasta kolonija granulocita-makrofaga. U trećoj fazi se te stanice injektiraju bolesniku iz kojeg su izolirane, a postupak se ponavlja kroz 3 ciklusa. U kliničkim istraživanjima sipuleucel je dokazano produljivao preživljavanje pacijenata s asimptomatskim, metastatskim rakom prostate.

U aktivnoj nespecifičnoj imunoterapiji koriste se nespecifični imunomodulatori. U ovu skupinu ubrajaju se tvari koje izravno ili neizravno pojačavaju imunosti odgovor. Predstavnik ove skupine u onkološkoj terapiji je bacillus Calmette-Guerin (BCG), cjepivo protiv tuberkuloze. Potiče imunosti odgovor tako što stimulira upalnu reakciju, a najčešće se primjenjuje u liječenju mišićno-neinvazivnog raka mokraćnoga mjehura. Osim cjepiva protiv tuberkuloze u aktivnu nespecifičnu imunoterapiju spadaju i interferoni (IFN) koji su klasificirani kao citokini. Tri su vrste interferona: IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  i IFN- $\gamma$ . IFN- $\alpha$  je produkt makrofaga, IFN- $\beta$  se stvara u fibroblastima i epitelnim stanicama, a IFN- $\gamma$  nastaje u limfocitima. Razlikuju se s obzirom na: antivirusnu aktivnost, inhibiciju angiogeneze, regulaciju diferencijacije i ekspresije biljega na staničnoj površini, ulogu u proliferaciji stanica te imunomodulacijsku aktivnost. Najvažniji antitumorski učinak interferona proizlazi iz izravne antiproliferativne aktivnosti. U liječenju raka najdjelotvorniji je IFN- $\alpha$ . Unutar skupine citokina je i interleukin-2 koji stvaraju pomoćnički limfociti T, a također se koristi u liječenju raka iako nema izravan učinak na tumorske stanice. Antitumorski učinak ostvaruje tako što stimulira rast i aktivnost imunosti stanica (NK, T limfociti). U aktivnu nespecifičnu imunoterapiju spadaju i inhibitori kontrolnih točaka koji djeluju tako što blokiraju specifične proteine koje stanice raka koriste za izbjegavanje imunološkog sustava. Ključne su dvije inhibitorne molekule: antigen citotoksičnih T-limfocita 4 (CTLA-4) te programirani protein stanične smrti (PD-1). Lijekovi koji se koriste kao inhibitori kontrolnih točaka u onkologiji su: ipilimumab (CTLA-4 inhibitor) (Slika 2.), nivolumab i pembrolizumab (PD-1 inhibitori) te atezolizumab, avelumab i durvalumab (PD-L1 inhibitori) (Vrdoljak i sur., 2018.).



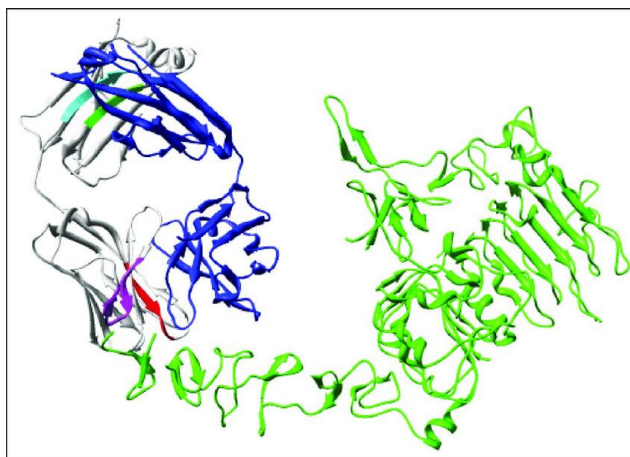
Slika 2. Prikaz strukture ipilimumaba

(Preuzeto s: <https://go.drugbank.com/drugs/DB06186> )

### 2.3.2. Pasivna imunoterapija

U usporedbi s aktivnom imunoterapijom koja podrazumijeva stimulaciju pacijentovog imunološkog sustava, pasivna imunoterapija podrazumijeva upotrebu monoklonalnih protutijela. U prošlosti, monoklonalna protutijela su se stvarala imunizacijom domaćina (miš, kunić) željenim antigenima te su na koncu procesom pročišćavanja dobivana željena protutijela. Zahvaljujući napredovanju znanosti, danas se monoklonalna protutijela dobivaju na način da se uzimaju plazma stanice specifične za odgovarajući antigen te se spajaju s neproduktivnom mijelomskom stanicom, a produkt je tumorska stanica (hibridom) koja stvara željeno monoklonalno protutijelo. Humana protutijela za razliku od npr. mišjih uglavnom ne izazivaju imunoreakciju domaćina. Monoklonalna protutijela u terapiji onkoloških bolesnika djeluju na različite načine: blokiraju stanične čimbenike rasta, povećavaju imunosti odgovor na tumor te vežu protutumorske lijekove, radioizotope i toksine. Jedno od najčešće korištenih humaniziranih monoklonalnih protutijela je trastuzumab (Slika 3.) koji se primjenjuje kod pacijentica s visokom ekspresijom HER2 proteina. HER2 protein je transmembranski receptor bez poznatog liganda, a HER2 pozitivni tumori dojke su agresivnog karaktera te s uglavnom smanjenim izgledima za preživljavanje. U kliničkoj praksi pasivne imunoterapije upotrebljava se i bevacizumab. Bevacizumab je protutijelo usmjereno na VEGF (vaskularni endotelni čimbenik rasta) koji tako inhibira neoangiogenezu te se koristi u liječenju raka kolorektuma, pluća, bubrega i dojke. Cetuksimab i panitumumab monoklonalna su protutijela usmjerena na receptor za epidermalni čimbenik rasta (EGFR) u svrhu liječenja kolorektalnog raka te raka glave i vrata. Rituksimab se koristi kod liječenja hematoloških neoplazmi, usmjeren je na CD20 antigen koji se nalazi na B-limfocitima. Kod liječenja metastatskog raka dojke koristi se i relativno nova terapijska kombinacija monoklalnog protutijela trastuzumaba i citotoksičnog lijeka emtansina (Vrdoljak i sur., 2018.).





Slika 3. Prikaz strukture trastuzumaba (Fab domene) u kompleksu s izvanstaničnom domenom HER2 (zeleni lanac)

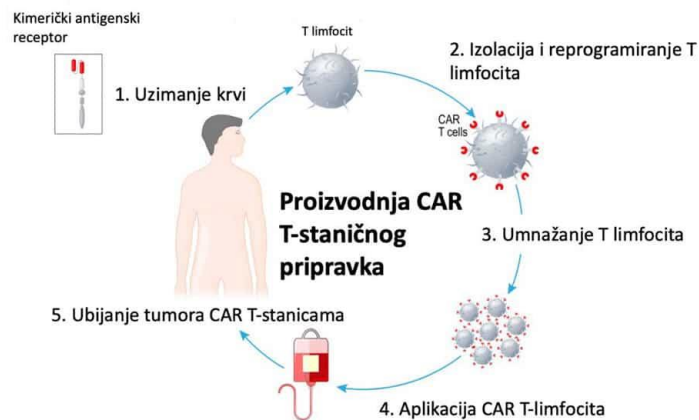
Preuzeto s: [https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-trastuzumab-Herceptin-Fab-in-complex-with-extracellular-domain-of-HER2-is\\_fig6\\_40908230](https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-trastuzumab-Herceptin-Fab-in-complex-with-extracellular-domain-of-HER2-is_fig6_40908230)

(Wang i sur., 2009.)

### 2.3.3. Adoptivna imunoterapija

Adoptivna imunoterapija je metoda liječenja koja koristi pacijentove imunološke stanice koje se modificiraju i umnožavaju u laboratorijskim uvjetima kako bi se pojačala njihova sposobnost prepoznavanja i uništavanja tumorskih stanica. Imunoterapija TIL-om i LAK stanicama (limfokinima aktivirane stanice ubojice) oblik je adoptivne imunoterapije. Imunoterapija TIL-om (limfociti koji infiltriraju rastući tumor) uključuje izolaciju T-limfocita iz pacijentovog tumorskog tkiva jer imaju sposobnost prepoznavanja tumorskih biljega. T-limfociti se inkubiraju malim dozama interleukina-2 te se potom izoliraju dok inkubacijom limfocita iz pacijentove periferne krvi visokim dozama interleukina-2 nastaju LAK stanice. U liječenju adoptivnom imunoterapijom bolji učinak se postiže prijenosom TIL stanica u pacijentov organizam. Ova metoda se uglavnom koristi kod liječenja krajnjih faza bolesti kod solidnih tumora, melanoma i glioblastoma. Postoji još jedan oblik liječenja onkoloških bolesnika adoptivnom imunoterapijom, a to je CAR-T liječenje (Slika 4.). Iz krvi bolesnika izoliraju se T-limfociti koji se zatim u laboratoriju inficiraju viralnim vektorom. Ovo dovodi do ekspresije kimeričnog antigen-receptora koji prepoznaje ciljane tumorske antigene. Limfociti se potom umnažaju te se intravenozno prenose u organizam pacijenta. Njihova proliferacija u organizmu dovodi do uništavanja tumorskih stanica. Terapija CAR-T

stanicama uglavnom se koristi u liječenju limfoblastične leukemije te ne-Hodgkinovih limfoma (Vrdoljak i sur., 2018.).



Slika 4. Mehanizam djelovanja CAR-T terapije

(Preuzeto s: <https://zakladazora.hr/stanicne-imunoterapije-tumora.php>)

## 2.4. Nuspojave imunoterapije

Imunoterapija kao metoda liječenja raka predstavlja revoluciju u onkologiji, ali kao i svaka terapija može dovesti i do određenih nuspojava. Najčešće nuspojave su: opsežan osip ili svrbež (koža), proljev koji može sadržavati i krv te bolovi u trbuhu (gastrointestinalni sustav), umor, promjena tjelesne mase, mučnine, povraćanje, promjene apetita i žeđi (endokrini sustav), kratak dah ili kašalj (respiratorni sustav), glavobolja, slabost mišića, oticanje zglobova te sklonost nastajanju modrica. Ozbiljnije, ali rjeđe nuspojave uključuju neurološke i kardiološke komplikacije (blage neuropatije, encefalitis, miokarditis, perikarditis). Zbog potencijalnih nuspojava pacijenti koji se tretiraju nekom od metoda imunoterapije su pod liječničkim nadzorom od početka do kraja liječenja. Unatoč mogućim nuspojavama, imunoterapija predstavlja danas, ali i u budućnosti vrlo značajnu metodu liječenja onkoloških bolesnika te doprinosi poboljšanju kvalitete njihovog života (Weber i sur., 2015.).

### **3. PAMETNI LIJEKOVI**

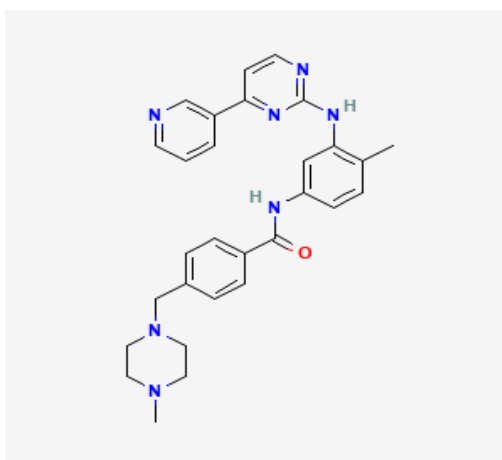
#### **3.1. Lijekovi u onkologiji**

Razvoj i primjena lijekova u onkologiji omogućuje ne samo povećanje stope preživljavanja oboljelih od raka, već i značajno poboljšanje kvalitete života. Onkološki lijekovi obuhvaćaju široki spektar terapijskih opcija koje imaju specifične mehanizme djelovanja unutar stanica raka ili u njihovoj okolini. Kemoterapija ili citostatska terapija predstavlja metodu liječenja raka primjenom lijekova citostatika. Citostatici su lijekovi koji ne djeluju selektivno, tj. osim što djeluju na stanice raka, djeluju i na okolne zdrave stanice. Prema mehanizmu djelovanja i kemijskom sastavu citostatici se dijele na: alkilirajuće spojeve, antimetabolite, protutumorske antibiotike, mitotičke inhibitore te ostale citostatike. Zbog neselektivnog djelovanja citostatika odnosno zbog djelovanja na zdrave stanice brojne su nuspojave: mučnina, povraćanje, gubitak kose, anemija, osjetljivost na infekcije te umor. U novije vrijeme u onkologiji se za liječenje raka upotrebljavaju pametni lijekovi, terapijska metoda poznata pod nazivom ciljana terapija. Ciljana terapija omogućuje preciznije djelovanje, jer ovi lijekovi ciljaju specifične molekularne mete te zbog toga ne djeluju štetno na okolne zdrave stanice, a samim time manje je nuspojava u odnosu na citostatike. Pametni lijekovi predstavljaju značajan napredak u liječenju raka, njihova sposobnost da ciljano uništavaju stanice raka uz minimalne nuspojave pruža novu nadu pacijentima te otvara put daljnjeg razvoja novih pametnih lijekova koji će dodatno poboljšati ishode liječenja i kvalitetu života oboljelih od raka (Vrdoljak i sur., 2018.)

#### **3.2. Otkriće pametnog lijeka**

Imatinib (Slika 5.), poznat pod nazivom Gleevec jedno je od najznačajnijih otkrića u povijesti onkologije i farmakologije. Krajem 1990.-ih biokemičar Nicholas Lyndon otkrio je prvi pametni lijek dizajniran za ciljanje specifičnih molekularnih abnormalnosti koje su posljedica djelovanja stanica raka. Uvođenje imatiniba u kliničku praksu značajno je promijenilo način liječenja kronične mijeloične leukemije (CML), a njegovu upotrebu u liječenju predvodio je Brian Druker, onkolog na Dana-Farber institutu. Prvo kliničko ispitivanje ovog lijeka provedeno je 2001. godine kada je ujedno dobiveno i odobrenje od FDA (Američka agencija

za hranu i lijekove). Kroničnu mijeloičnu leukemiju obilježava prisutnost BCR-ABL fuzijskog gena koji nastaje kao posljedica translokacije između kromosoma 9 i 22 (Philadelphia kromosom). BCR-ABL gen kodira za abnormalnu tirozin-kinazu koja je odgovorna za nekontroliranu proliferaciju leukemijskih stanica u CML-u. Imatinib djeluje kao inhibitor abnormalne tirozin-kinaze. Na temelju provedenih kliničkih istraživanja dokazana je učinkovitost imatiniba u obliku potpunog hematološkog odgovora u 95,3% pacijenata te potpunog citogenetskog odgovora u 73,8% oboljelih. Hematološki odgovor podrazumijeva poboljšanje krvne slike (smanjuje broj leukocita, normalizira razinu hemoglobina i trombocita) dok se pod citogenetskim odgovorom podrazumijeva odsustvo detekcije fuzijskog gena BCR-ABL što može ukazivati na dugotrajnu remisiju. Imatinib nije samo produljio život mnogih pacijenata oboljelih od kronične mijeloične leukemije već je i poboljšao kvalitetu života uz relativno blage nuspojave u usporedbi s tradicionalnom kemoterapijom. Otkriće imatiniba osim snažnog utjecaja na ishode liječenja oboljelih doprinijelo je daljnjim istraživanjima i razvoju novih ciljano usmjerenih terapija za različite vrste raka (Iqbal & Iqbal, 2014.).



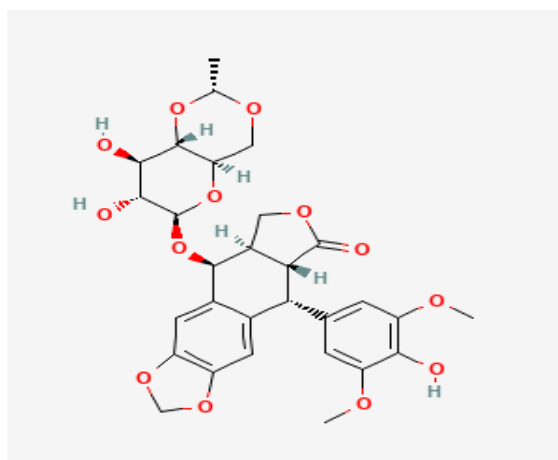
Slika 5. Prikaz kemijske strukture imatiniba

(Preuzeto s <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Imatinib#section=2D-Structure>)

### 3.3. Inhibitori topoizomeraza

Topoizomeraze su enzimi koji imaju ključnu ulogu u regulaciji superuvijanja DNK tijekom replikacije i transkripcije. Ovi enzimi omogućuju promjene u strukturi DNK poput pucanja i ponovnog spajanja DNK lanca. U onkologiji, inhibitori topoizomeraza lijekovi su koji ciljaju

navedene enzime kako bi spriječili rast i proliferaciju stanica raka. Inhibitori topoizomeraze djeluju na način da stabiliziraju privremene prekide u DNK koje stvaraju topoizomeraze sprječavajući ih da ponovno spoje DNK lance što dovodi do nepovratne štete na deoksiribonukleinskoj kiselini te konačno do apoptoze tj. programirane stanične smrti. Ovisno o enzimu koji ciljaju, inhibitori topoizomeraze su klasificirani u dvije kategorije: inhibitori topoizomeraze I i inhibitori topoizomeraze II. Topoizomeraza I privremeno reže jedan lanac DNK, a topoizomeraza II reže oba lanca DNK. Etopozid (Slika 6.) se koristi u liječenju malignih bolesti, uključujući rak pluća, limfom i testikularni karcinom. Tenipozid je analog etopozida te ima sličan mehanizam djelovanja. Oba lijeka ostvaruju interakciju s topoizomerazom II te oštećuju DNK molekulu sprječavajući ponovnu ligaciju. Doksorubicin, daunorubicin, epirubicin i idarubicin spadaju u skupinu antraciklinskih antibiotika, često primjenjivanih antitumorskih lijekova. Doksorubicin, poznat i pod nazivom adriamicin, upotrebljava se u kombiniranim terapijama za liječenje raka dojke, leukemije, limfoma i sarkoma. Oni također inhibiraju djelovanje topoizomeraze II te formiraju jednolančane ili dvolančane lomove unutar DNK molekule. Irinotekan, inhibitor topoizomeraze I koristi se za liječenje različitih vrsta raka dok se topotekan koristi za liječenje raka jajnika. Unatoč visokoj učinkovitosti inhibitora topoizomeraze protiv različitih tipova raka, njihova upotreba dolazi s određenim izazovima poput značajnih nuspojava npr. smanjuju sposobnost koštane srži da stvara krvne stanice, postoji rizik od razvoja sekundarnih malignih oboljenja te razvoj rezistencije stanica raka na ove lijekove kao gotovo najveći izazov. Naime, stanice raka mogu razviti mehanizme koji smanjuju učinkovitost spomenutih inhibitora (Pommier i sur., 2010.b).



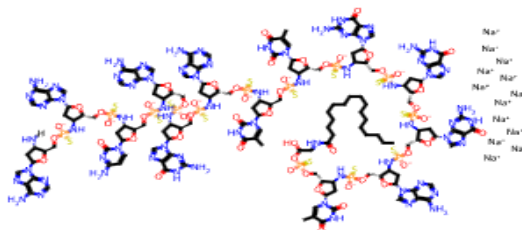
Slika 6. Prikaz kemijske strukture etopozida

(Preuzeto s <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Etoposide#section=2D-Structure>)

### 3.4. Inhibitori telomeraza

Replikacija DNA molekule je proces u kojem se dvolančana DNA molekula udvostručuje tj. od jedne DNA molekule nastaju dvije istovjetne kopije. Tijekom procesa replikacije, enzim DNA-polimeraza dodaje nove nukleotide na lanac DNA, ali zbog specifičnosti enzima i strukture molekule telomere se ne mogu u potpunosti kopirati. Telomeraza je enzim koji obnavlja telomere, strukture na krajevima kromosoma koje štite genetski materijal tijekom stanične diobe. Ovaj enzim ima ulogu reverzne transkriptaze, produžuje telomere dodavanjem ponovljenih nukleotidnih sekvenci (TTAGGG kod ljudi). U stanicama bez aktivne telomeraze, skraćivanje telomera na kraju dovodi do starenja stanica ili apoptoze, programirane stanične smrti. Normalne stanice su ograničene brojem dioba zbog postepenog skraćivanja telomera, a tumori reaktiviraju telomerazu te je na taj način stanicama raka omogućeno beskonačno dijeljenje za razliku od normalnih stanica. Aktivna telomeraza omogućava stanicama da održavaju duljinu telomera i time izbjegnu prirodne mehanizme koji ograničavaju broj dioba. Telomeraza dakle ima dvostruku ulogu: u normalnim stanicama doprinosi održavanju kromosomske stabilnosti dok tumorskim stanicama omogućava besmrtnost. Upravo zbog toga znanstvenici ulažu napore u istraživanje inhibitora telomeraza kao terapijskih lijekova u onkologiji. Pametni lijekovi, inhibitori telomeraze selektivno ciljaju i inhibiraju djelovanje enzima telomeraze čime se sprječava obnavljanje telomera u tumorskim stanicama. Istraživanja su pokazala da je ekspresija telomeraze karakteristična za maligne tumore gotovo svih vrsta za razliku od benignih tumora koje karakterizira odsutnost telomerazne aktivnosti. Aktivnost telomeraze nije potrebna za nastanak raka, ali je potrebna za održavanje i rast uznapredovalog tumora. Učinak inhibitora telomeraza je vidljiv tek nakon što stanice raka dovoljno skrate svoje telomere kontinuiranom proliferacijom da bi došlo do smrti stanica stoga je ova vrsta terapije prema dosadašnjim saznanjima bolja u svrhu terapije održavanja odnosno u kombinaciji s drugim vrstama terapija u onkologiji. Do sada jedini lijek u kliničkim ispitivanjima koji spada u skupinu inhibitora telomeraza je imetelstat (Slika 7.). Ovaj lijek se specifično vezuje za RNA komponentu telomeraze, blokirajući njezin katalitički centar što onemogućava telomerazu da produži telomere. Primjenjuje se uglavnom u liječenju hematoloških maligniteta, a istraživanja koja još uvijek traju ispituju djelotvornost ovog lijeka u liječenju akutne mijeloidne leukemije s obzirom da je pokazao potencijal smanjivanja proliferacije leukemičnih stanica. Unatoč pokazanom potencijalu u svrhu liječenja onkoloških

bolesnika, ovaj lijek je i dalje pod kliničkim ispitivanjima i zbog otkrivenih nuspojava kao što je smanjenje broja krvnih stanica što vodi do anemije, infekcija i krvarenja (Shay, 2016.).



Slika 7. Prikaz kemijske strukture imetelstata

(Preuzeto s: <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.34983286.html>)

### 3.5. Anti-angiogenetski lijekovi

Tumorska angiogeneza je proces kojim iz već postojećih krvnih žila nastaju nove krvne žile koje urastaju u tumorsko tkivo. Bez vlastitog sustava krvnih žila, rak može dosegnuti veličinu promjera do 0,2 mm te kad dosegne taj maksimum svoje veličine ostaje u mirujućem stanju u kojem je brzina diobe tumorskih stanica jednaka brzini odumiranja istih. Dok ne dođe do angiogeneze rak se opskrbljuje hranjivim tvarima i kisikom putem difuzije. Dakle, bez obzira na podrijetlo i lokacije metastaza u organizmu, tumorsko tkivo mora biti opskrbljeno vlastitim sustavom krvnih žila kako bi mu bio omogućen daljnji rast i razvoj. Do angiogeneze dolazi ukoliko se pojave određene promjene u stanicama raka tijekom tumorske progresije odnosno sve stanice koje sudjeluju u procesu angiogeneze mogu potaknuti ili inhibirati taj proces stvaranjem različitih molekula. Unutar skupine tih molekula ključnu ulogu ima vaskularni endotelni čimbenik rasta (VEGF) koji spada u proangiogenetske čimbenike. Tumorska angiogeneza je stoga glavna meta anti-angiogenetskih lijekova, a primarni cilj terapije ovim lijekovima je inhibicija stvaranja maligne neovaskulature koja opskrbljuje tumorsko tkivo te mu omogućava daljnji rast i razvoj. Ovi lijekovi djeluju tako što blokiraju faktore rasta ili njihove receptore koji su ključni za angiogenezu, a najvažniji cilj ovih lijekova je upravo

vaskularni endotelni faktor rasta jer je to protein koji stimulira proliferaciju i migraciju endotelnih stanica što je neophodno za stvaranje novih krvnih žila. Glavni anti-angiogenetski lijekovi koji se primjenjuju u kliničkoj praksi su: bevacizumab, sunitinib, sorafenib i aflibercept.

Bevacizumab (Slika 8.) je monoklonsko antitijelo koje se veže za vaskularni endotelni čimbenik rasta te ga na taj način sprječava da komunicira s njegovim receptorima na površini endotelnih stanica što inhibira angiogenezu. Bevacizumab se primjenjuje u liječenju mnogih vrsta raka kao što su rak pluća, rak dojke i glioblastom.

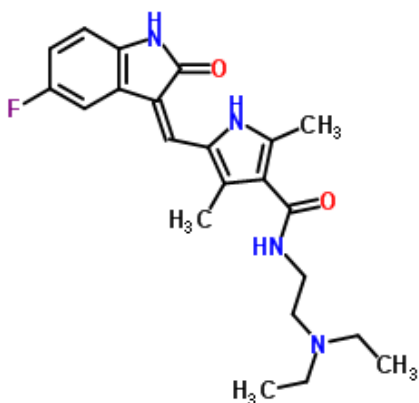


Slika 8. Prikaz strukture bevacizumaba

(Preuzeto s: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00112> )

Sunitinib (Slika 9.) je inhibitor tirozin -kinaze koji blokira aktivnost nekoliko receptora u koje spadaju VEGFR i PDGFR (receptor za faktor rasta deriviran iz krvnih pločica, trombocita). Tirozin – kinaza ima ključnu ulogu u regulaciji angiogeneze, aktivirajući signalne puteve koji potiču proliferaciju i migraciju endotelnih stanica. Koristi se u terapiji bubrežnih karcinoma, gastrointestinalnih stromalnih tumora i pankreanih neuroendokrinih tumora.

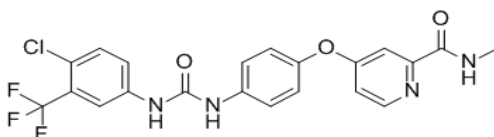




Slika 9. Prikaz kemijske strukture sunitiniba

(Preuzeto s [https://www.chemsrc.com/en/cas/342641-94-5\\_765459.html](https://www.chemsrc.com/en/cas/342641-94-5_765459.html))

Sorafenib (Slika 10.) je također inhibitor tirozin-kinaze, a njegovim djelovanjem inhibira se angiogeneza i proliferacija stanica raka. Upotrebljava se uglavnom u terapiji hepatocelularnog karcinoma (rak jetre) i bubrežnih karcinoma.



Slika 10. Prikaz kemijske strukture sorafeniba

(Preuzeto s: [https://www.chemsrc.com/en/cas/284461-73-0\\_894723.html](https://www.chemsrc.com/en/cas/284461-73-0_894723.html))

Aflibercept je rekombinantni fuzijski protein koji ima visok afinitet vezivanja vaskularnog endotelnog čimbenika rasta, a koristi se u kombinaciji s kemoterapijom za liječenje metastatskog kolorektalnog karcinoma (Buttiglierio i sur., 2016.)

### 3.6. Gensko testiranje u onkologiji

Gen je osnovna jedinica genetskog materijala, segment DNK (deoksiribonukleinske kiseline) koji sadržava upute potrebne za sintezu određenog proteina. Mutacije su promjene u DNK, a upravo one ponekad čine tumore kandidatima za ciljanu terapiju, odnosno za pametni lijek s obzirom da je meta izmijenjeni protein. Genetski testovi otkrivaju mutacije koje kodiraju te proteine te na taj način identificiraju djelotvornost ili nedjelotvornost ciljane terapije za svaki tumor pojedinačno. Naime, određene mutacije čine stanice raka otpornima na lijek te se u takvom slučaju ciljana terapija ne primjenjuje. Svaki genetski test za ciljanu terapiju detektira mutacije u jednom genu što znači da su rezultati testa specifični za svaki gen i ciljanu terapiju koja se procjenjuje. Na primjer, prisutnost mutacije u genu ABL1 kod kronične mijeloične leukemije dovodi do neosjetljivosti na imatinib, prisutnost mutacije u genu KRAS kod raka debelog crijeva uzrokuje otpornost na inhibitore tirozin kinaze itd. Testiranje se provodi tako što se iz uzorka tumorskog tkiva dobivenog biopsijom ili iz krvi pacijenta izolira DNK koja se potom podvrgava sekvenciranju, procesu kojim se određuje redoslijed nukleotida u genima. Nakon sekvenciranja dobiveni redoslijed se analizira kako bi se mogle identificirati genetske mutacije. Gensko testiranje služi kao alat u onkologiji koji omogućava prilagođavanje terapije specifičnim karakteristikama tumora svakog pacijenta te samim time omogućava predviđanje uspješnosti terapije odnosno smanjuje rizik od neuspjeha i štetnih učinaka. Također, na temelju rezultata genske analize, liječnici mogu prilagoditi dozu lijeka te imaju mogućnost odabrati alternativne tretmane kojima bi poboljšali učinkovitost terapije i kvalitetu života pacijenta. (Testing.com, 2021b)

### **3.7. Nuspojave pametnih lijekova**

Iako su pametni lijekovi specifični u svom djelovanju što znači da za razliku od tradicionalne kemoterapije ne utječu negativno na okolno zdravo tkivo, oni i dalje mogu izazvati nuspojave koje se razlikuju s obzirom na vrstu lijeka i njegov mehanizam djelovanja. Najčešće nuspojave ovih lijekova su: problemi s kožom tj. osip i suha koža (ove promjene karakteristične su kod inhibitora tirozin kinaze jer ciljaju receptore na površini stanica), mučnina, povraćanje, proljev, bol u abdominalnom području, hepatotoksičnost (oštećenje jetre je rijetka, ali ozbiljna nuspojava), visok krvni tlak te alergijske reakcije. Također, moguće su promjene u broju krvnih stanica (eritrocita i leukocita) te krvnih pločica što može dovesti do anemije, krvarenja te pojave infekcija. Upravo zbog mogućnosti pojave navedenih nuspojava ova vrsta terapije zahtijeva praćenje i liječnički nadzor, a same nuspojave uglavnom nestaju prestankom liječenja. (Rath,2024.)

## **4. ZAKLJUČAK**

Rak je jedna od najsmrtonosnijih bolesti današnjice koja svakodnevno odnosi živote širom svijeta bez obzira na dob i spol što ovu bolest čini globalnim zdravstvenim izazovom. Kroz povijest otkrivene su različite vrste terapija kojima se liječe onkološki bolesnici, ali jednako tako onkologija kao grana medicine suočena je s brojnim izazovima s obzirom na složenost i letalne posljedice ove bolesti. Napretkom medicine, otkriveni su inovativni pristupi liječenja u onkologiji kao što su imunoterapija i ciljana terapija tj. pametni lijekovi. Imunoterapija, koja aktivira pacijentov vlastiti imunološki sustav da prepozna i uništi tumorske stanice pokazala je izvrsne rezultate u slučajevima gdje su tradicionalne metode liječenja bile nedovoljno učinkovite. S druge strane, pametni lijekovi koji su dizajnirani da specifično ciljaju molekularne mehanizme unutar stanica raka smanjuju neželjeno djelovanje na okolno zdravo tkivo te predstavljaju korak ka preciznoj medicini. Stoga, daljnje istraživanje i razvoj ovih terapija ključno je za unaprjeđenje liječenja onkoloških bolesnika, ali i postavlja temelje za buduće inovacije u onkologiji.

## 5. LITERATURA

1. Buttigliero, C., Bertaglia, V., & Novello, S. (2016). Anti-angiogenetic therapies for central nervous system metastases from non-small cell lung cancer. *Translational Lung Cancer Research*, 5(6), 610–627.
2. Iqbal, N., & Iqbal, N. (2014). Imatinib: a breakthrough of targeted therapy in cancer. *Chemotherapy Research and Practice*, 2014, 1–9.
3. McCarthy, E. F. (2006). The toxins of William B. Coley and the treatment of bone and Soft-Tissue sarcomas. *PubMed Central (PMC)*. 26, 154-158
4. Pommier, Y., Leo, E., Zhang, H., & Marchand, C. (2010a). DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs. *Chemistry & Biology*, 17(5), 421–433.
5. Rath, L. (2024, February 23). What is targeted therapy for cancer? WebMD. <https://www.webmd.com/cancer/targeted-therapy-cancer>
6. Shay, J. W. (2016). Role of telomeres and telomerase in aging and cancer. *Cancer Discovery*, 6(6), 584–593.
7. Testing.com. (2021.) Genetic tests for targeted cancer therapy - Testing.com. <https://www.testing.com/tests/genetic-tests-targeted-cancer-therapy/> (pristupljeno 10. 08. 2024.)
8. Vrdoljak, E., Lovasić, Belac I., Kusić, Z., Gugić, D., Juretić, A. (2018). Klinička onkologija. Medicinska naklada, Zagreb (3. Izdanje )
9. Weber, J. S., Yang, J. C., Atkins, M. B., & Disis, M. L. (2015). Toxicities of immunotherapy for the practitioner. *Journal of Clinical Oncology*, 33(18), 2092–2099.