Klinička imunoterapija tumora s antitijelima protiv inhibicijskih receptora T-limfocita

Mežnarić, Marko

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:033070

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Marko Mežnarić

Klinička imunoterapija tumora s antitijelima protiv inhibicijskih receptora T-limfocita

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2018.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Klinici za onkologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb pod vodstvom prof. dr. sc. Antonia Juretića i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2017/2018.

Abecedni popis kratica

BTLA - B and T lymphocyte attenuator

CD28 - Cluster of differentiation 28

CTLA-4 - Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4

DNK - Deoksiribonukleinska kiselina

EMA - European medicines agency, Europska medicinska agencija

EU - Europska Unija

HVEM - Herpes virus entry mediator

irRC - Immune related response criteria

LAG-3 - Lymphocyte activation gene-3

MHC - major histocompatibility complex, glavni kompleks molekula tkivne podudarnosti

NSCLC - non-small-cell lung carcinoma, karcinom pluća nemalih stanica

PD-1 - Programmed cell death protein 1

PD-1H - Programmed death-1 homolog

PD-L1 - Programmed death-ligand 1

SAD - Sjedinjene Američke Države

TCR - T-cell receptor

TIM-3 - T-Cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecule

TNF - Tumor necrosis factor, faktor nekroze tumora

VEGF - Vascular endotelial growth factor, vaskularni endotelni faktor rasta

Sadržaj:

- **Sažetak** 5
- **Summary** 6
- **Uvod** 7
- **Imunoterapijske metode** 8
- **Klinička primjena** 10
- **Prediktivni faktori i biomarkeri** 11
- **Rezultati primjene i odgovori na liječenje** 13
- **Kombinacije blokatora kontrolnih točaka s drugim vrstama terapije** 14
- **Mjerenje odgovora na terapiju** 15
- **Molekularne interakcije i razlike između CTLA-4 i PD-1 blokade** 17
- **Nuspojave liječenja blokatorima kontrolnih točaka** 17
- **Ostale molekule signalnog puta na koje se može djelovati** 19
- **Zaključak** 21
- **Zahvale** 22
- **Literatura** 23
- **Životopis** 26

Sažetak

KLINIČKA IMUNOTERAPIJA TUMORA S ANTITIJELIMA PROTIV INHIBICIJSKIH RECEPTORA T-LIMFOCITA

Marko Mežnarić

Incidencija malignih bolesti je u kontinuiranom porastu. Postoji više načina liječenja, a jedan od njih je imunoterapija. U ovom preglednom radu će se govoriti o jednoj od metoda imunoterapije koja koristi protutijela protiv molekula kontrolnih točaka T-limfocita. U obrani organizma od tumora, T-limfociti imaju važnu ulogu. Međutim, na njihovoj površini postoje autoregulacijske molekule koje sprječavaju prejaki imunosni odgovor kod, na primjer, autoimunosnih reakcija ali, s druge strane, takve molekule onemogućavaju puno djelovanje T-limfocita protiv tumora. Cilj ovog preglednog rada je opisati način djelovanja te terapije, njene prednosti, uspjehe i nedostatke. U posljednjih nekoliko godina odobreno je od strane regulatornih agencija nekoliko monoklonskih protutijela protiv spomenutih molekula. To je bilo potaknuto uspjesima u pretkliničkim, a kasnije i kliničkim istraživanjima. Nakon odobrenja prvih protutijela za prve indikacije, došlo je do daljnjih odobrenja ili proširenja indikacija. Kod određenih slučajeva, ovakva se terapija može koristiti kao prva linija liječenja. Dosad se pokazalo da su nuspojave takve terapije razmjerno dobro podnošljive. Treba imati na umu da se radi o specifičnim nuspojavama, najčešće uzrokovanima djelovanjem imunosnog sustava. Jedan broj protutijela je trenutno u fazi kliničkih ispitivanja i očekuju se nova odobrenja kao i proširenja indikacija za korištenje dosadašnjih lijekova.

Metode: Pretraživane su elektroničke baze podataka PubMed i Uptodate.

Ključne riječi: Blokada kontrolnih točaka, CTLA-4 antagonisti, PD-1 antagonisti, inhibicijske molekule na T-limfocitima, negativna povratna sprega T-limfocita

Summary

CLINICAL IMMUNOTHERAPY OF TUMORS WITH MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST CHECKPOINT MOLECULES OF T-LYMPHOCYTES

Marko Mežnarić

The incidence of malignant diseases has been rising continuosly. There are several modes of cancer treatment and one of them is immunotherapy. This review will discuss one of the methods of immunotherapy where monoclonal antibodies are used against checkpoint molecules on T-lymphocytes. T-lymphocytes have an important role in tumor defense. However, on their surface regulatory molecules can be found that prevent an excessive immune response such as an autoimmune reaction. On the other hand, these molecules can prevent adequate antitumor activity of T-lyphocytes. The goal of this review is to describe the mechanism of action, benefits, achievements, and deficiencies of this type of therapy. In the last few years, regulatory agencies have approved the use of several antibodies against the mentioned molecules. This was encouraged by good results in preclinical and, later, clinical trials. After the approvals of the first antibodies for some indications, new antibodies were approved and the indications for their use were extended. In some cases, this therapy can be used as a first-line therapy. It has been shown so far that the side effects of this treatment were well tolerated. They can be specific and are mostly caused by this treatment's effect on the immune system. Several new antibodies are now being tested in clinical trials and we can expect new approvals and wider indications for the alredy approved drugs.

Methods: electronic databases PubMed and Uptodate were searched

Keywords: checkpoint blockade, CTLA-4 antagonists, PD-1 antagonists, inhibitory molecules on T-lymphocytes, negative feedback mechanism of T-lymphocytes

Uvod

Incidencija i prevalencija malignih bolesti u svijetu se povećava i one postaju globalni problem. U Republici Hrvatskoj rak je drugi najvažniji uzrok smrti iza bolesti srca i krvnih žila (1). Uobičajeni načini liječenja onkoloških bolesnika poput radioterapije, kemoterapije, hormonalne terapije i ciljane terapije djeluju direktno na tumor pa ga uništavaju ili usporavaju njegov rast. Međutim, takav način liječenja često dovodi do selekcije otpornijih stanica i s vremenom se razvije rezistencija ili smanjeni odgovor na određenu vrstu terapije. Zbog toga, nuspojave i toksičnost takvih metoda mogu ograničavati njihovu terapijsku primjenu u adekvatnim dozama (2, 3).

Drugi načini liječenja koriste imunoterapijske metode kojima se nastoji osnažiti sposobnost imunosnog sustava u suzbijanju tumora. Imunoterapija tumora je definirana kao „ona vrsta terapije koja za suzbijanje tumora koristi komponente imunosnog sustava. Neke imunoterapije koriste protutijela koja se vežu za tumorske proteine i inhibiraju njihovu funkciju, a druge metode koriste cjepiva i unose T-limfocite u tijelo bolesnika.“ (4) Poznato je da je pravilno funkcioniranje imunosnog sustava važno za sprječavanje nastanka i razvoja tumora. Određena stanja, kao npr. izloženost karcinogenima ili stanja kronične upale uzrokuju genetsku nestabilnost u stanicama, a to je preduvjet da iz do tada „normalne“ stanice nastane tumorska stanica. Prema teoriji tzv. „imunosnog nadzora“, uloga imunosnog sustava je važna u prepoznavanju i uništenju takvih genetski „promijenjenih“ stanica, tj. stanica s oštećenjem DNK. Takve stanice postaju antigenski različite u usporedbi s drugim stanicama u tijelu, a imunosne stanice mogu prepoznati tu različitost i na taj način uništiti tumor (2, 5, 6).

Ako tumor napreduje, imunosni sustav može postati slabije učinkovit. Taj se proces može podijeliti na 3 faze: u prvoj fazi imunosni sustav učinkovito prepoznaje i eliminira tumorske stanice, u drugoj fazi dolazi do „ravnoteže“ između rasta i uništenja stanica, a u trećoj fazi imunosni sustav više nije sposoban kontrolirati rast tumora (6). Cilj imunoterapije je ponovno

osposobljavanje imunosnog sustava s ciljem učinkovite eliminacije tumorskih stanica. Još je davne 1898. godine dr. William Coley primijetio da su neki pacijenti koji su bolovali od sarkoma doživjeli spontanu remisiju bolesti nakon bakterijske infekcije kože. Infekcija je potaknula imunosni odgovor protiv bakterija ali, istovremeno, i protiv tumora. Nakon toga, Coley je razvio cjepivo koje je sadržavalo mješavinu mrtvih bakterija. To je cjepivo izazivalo opće infektivne simptome koji su povećali imuni odgovor pacijenata na tumor (7). Nakon toga, imunoterapija se i dalje razvijala, s većim ili manjim entuzijazmom koji je ovisio o novostima i uspjesima u liječenju. Imunoterapija može biti aktivna i pasivna: aktivna se koristi lijekovima i tvarima koja ojačavaju imunosni sustav domaćina, a pasivna unosi gotove ojačane komponente imunosnog sustava u tijelo (2, 5).

Imunoterapijske metode

Postoji više načina imunoterapije. Adoptivna imunoterapija koristi T-limfocite bolesnika koji se modificiraju da lakše „prepoznaju“ stanice tumora. To se odvija „in vitro“, a zatim se takvi limfociti vraćaju u tijelo. Drugi način je korištenje tzv. onkolitičkih virusa. Takvi virusi napadaju stanice tumora, a ne napadaju ostale stanice u tijelu. Nakon uništenja tumorske stanice, iz nje se oslobađaju antigeni koji zatim stimuliraju imunosni sustav da bolje djeluje protiv tumora. Antigeni se mogu unijeti u tijelo i umjetnim putem, tj. antitumorskim cjepivima, koja također olakšavaju djelovanje imunosnog sustava (8).

Jedna od novijih metoda u imunoterapiji je korištenje protutijela koja preko molekula tzv. „kontrolnih točaka“ kontroliraju i povećavaju imunosni odgovor na tumor. Ta protutijela su usmjerena na inhibicijske mehanizme imunosnog sustava, a blokadom tih mehanizama postiže se aktivacija T-limfocita koji djeluju protiv tumora. T-limfociti su, dakle, glavne izvršne stanice imunosnog odgovora protiv tumora. Da bi T-limfociti učinkovito obavljali svoju zadaću, moraju „prepoznati“ tumorske antigene. Prepoznavanje se događa interakcijom receptor-ligand. Antigene prepoznaje receptor specifičan za antigen (engl. *T-cell receptor,*

TCR) na T-limfocitima, a stanice koje predočuju antigen nose tumorski antigen (ligand) na svojoj površini u sklopu MHC-molekula. Ako nastane takvo „prepoznavanje“, to je tzv. „prvi signal“. Uz to, potrebni su i dodatni signali, tzv. „drugi signal“ . I takve su reakcije također tipa receptor-ligand gdje su receptori na T-limfocitima neke druge molekule poput CD28, a ligandi mogu biti i na stanicama koje predočuju antigen i na tumorskim stanicama. Primjeri takvih liganda su molekule poput CD80 (B7-1) i CD86 (B7-2). Za aktivaciju T-limfocita nužna je interakcija i „prvog“ i „drugog signala“. Tek nakon toga T-limfocit se „aktivira“ prema određenom specifčnom antigenu, dolazi do njegove proliferacije i diferencijacije i može „napadati“ tumor (2, 3, 5).

Jedan od receptora „drugog signala“ je **CTLA-4**. CTLA-4 spada u skupinu CD28 receptora i veže se za iste ligande kao i CD28, a to su CD80 i CD86. Do ekspresije molekula CTLA-4 dolazi u prethodno aktiviranih T-limfocita koji stimuliraju egzocitozu tih molekula prema svojoj površini. U tom trenutku dolazi do međusobne kompeticije između molekula CTLA-4 i CD28, ali molekule CTLA-4 se vežu sa jačim afinitetom za ligande. CTLA-4 zatim djeluje inhibitorno na T-limfocite i koči njihovu daljnju proliferaciju i aktivaciju. Takav mehanizam služi sprječavanju nepotrebnog imunosnog odgovara i autoimunosti (9, 10). Protutijela koja blokiraju taj mehanizam inhibicije mogu reaktivirati T-limfocite. Zbog te zanimljive činjenice, ulažu se veliki napori u brojna istraživanja anti CTLA-4 protutijela u klinici. Prvo takvo protutijelo odobreno za kliničku upotrebu bilo je protutijelo protiv CTLA-4 (ipilimumab). Osim CTLA-4, postoje i druge molekule na T-limfocitima koje djeluju slično kao i CTLA-4. Te molekule su također predmet interesa mnogih istraživanja. Primjer je molekula **PD-1** (i njen ligand PD-L1) (11). Dosadašnjim je kliničkim istraživanjima dokazano da je blokada tih molekula utjecala na povoljniji ishod liječenja u određenih tumora nakon neuspješnog ranijeg liječenja standardnim metodama (12-14). Takvi lijekovi pozitivno utječu

na ukupno preživljenje bolesnika, u usporedbi s npr. liječenjem zasnovanom na kemoterapiji (15).

Klinička primjena

Ranije je spomenuto da je prvo odobreno protutijelo protiv molekula kontrolnih točaka bilo ipilimumab (anti-CTLA-4). 2011. godine odobren je u SAD-u i EU za liječenje bolesnika s metastatskim melanomom. Kasnije su odobrena i anti PD-1 (i PD-L1) protutijela. Koriste se u liječenju uznapredovalog melanoma, karcinoma bubrega, karcinoma pluća nemalih stanica (NSCLC), karcinoma glave i vrata, karcinoma mokraćnog mjehura i Hodgkinovog limfoma (15). Naravno, koriste se samo za neke određene stadije bolesti i koriste se ovisno o vrsti prethodne antitumorske terapije. Trenutno se odvijaju klinička istraživanja koja utvrđuju korist takvog liječenja i u drugim malignim bolestima, poput karcinoma želudca, ovarija, hepatocelularnog karcinoma i nekih hematoloških maligniteta (12, 15). Navedena klinička istraživanja pokazuju da su stope preživljenja značajno više kod mnogih bolesti u usporedbi s standardnim načinima liječenja istih bolesti (15). Zbog takvih obećavajućih rezultata u terapiji tumora inhibicijom kontrolnih točaka, počinje se odobravati sve više novih lijekova i proširuju se indikacije za već ranije odobrene lijekove. Velik korak je napravljen kada su određeni lijekovi odobreni kao prva linija terapije nekih bolesti. Tako je npr. pembrolizumab (anti-PD-1 protutijelo) odobren kao prva linija liječenja neresektabilnog metastatskog melanoma. Kasnije, dopuštenje za kliničku primjenu dobivaju i kombinacije inhibitora kontrolnih točaka. Na primjer, nivolumab (anti-PD-1) i ipilimumab (anti-CTLA-4) odobreni su u kombinaciji za liječenje određenih vrsta melanoma (16). Prvo odobreno anti-PD-L1 protutijelo bilo je atezolizumab. PD-L1 ligand se nalazi na tumorskim stanicama i na T-limfocitima koji infiltriraju tumor i blokada također rezultira boljim rezultatima u liječenju. Atezolizumab je u SAD-u odobren za karcinom mokraćnog mjehura i za nesitnostanični karcinom pluća (NSCLC). Odobrena su i druga anti-PD-L1 protutijela za liječenje određenih

tumora kao npr. durvalumab i avelumab za urotelni karcinom prethodno neuspješno liječen kemoterapijom baziranoj na platini. Usporedni rezultati istraživanja dokazuju da su anti-PD-(L)1 protutijela nešto specifičnija od anti-CTLA-4 protutijela što znači da imaju manju sistemnu toksičnost i bolje se podnose (17). O nuspojavama će više riječi biti kasnije.

Tablica 1: Inhibitori kontrolnih molekula signalnog puta odobreni u Europskoj Uniji

Odobren lijek	Indikacije
Nivolumab (anti-PD-1)	Karcinom pluća (NSCLC), osim sitnostaničnog Adenokarcinom bubrega Hodgkinov limfom Melanom
Ipilimumab (anti-CTLA-4)	Melanom
Pembrolizumab (anti-PD-1)	Karcinom pluća (NSCLC), osim sitnostaničnog Hodgkinov limfom
Atezolizumab (anti-PD-L1)	Karcinom pluća, osim sitnostaničnog (NSCLC) Urotelni karcinom
Avelumab (anti-PD-L1)	Karcinom Merkelovih stanica

Za izradu tablice su korišteni podaci sa internet stranice Europske agencije za lijekove (EMA) (18)

Prediktivni faktori i biomarkeri

U onkološkom liječenju, vrlo je korisno znati u kojih će bolesnika terapija biti uspješnija, a u kojih neće. Postoje mnogi načini kojima se to pokušava ustanoviti. U liječenju tumora protutijelima protiv inhibicijskih molekula na T-limfocitima pokušavaju se odrediti biomarkeri ili drugi faktori kojima bismo uspješnije mogli odrediti ishod terapije ili kandidate za takvu vrstu liječenja. Kao i kod drugih imunoterapija, broj limfocita prije i za vrijeme liječenja mogao bi biti koristan pokazatelj buduće uspješnosti. Prednost toga je jednostavnost i jeftina primjena. Određene studije su dokazale da je povećan broj ukupnih limfocita za vrijeme terapije pozitivno djelovao na ukupno preživljenje i odgovor na terapiju (19, 20, 21). Problem broja limfocita kao prediktivnog markera je u tome što još uvijek ne možemo

ustanoviti točnu kvantitativnu povezanost između broja limfocita i stupnja odgovora na terapiju, a koja bi bila relativno pouzdana. Dosadašnje studije su pokazale određeni stupanj razlike u rezultatima pa su potrebne nove i veće studije da bi broj limfocita mogao postati pouzdan biomarker (20). Još jedan prediktivni čimbenik mogla bi biti laktat-dehidrogenaza (LDH). Povišene vrijednosti LDH uglavnom su povezane s lošijim ishodom liječenja (21). Kod liječenja anti-PD-1 protutijelima, istraživala se prisutnost PD-L1 na tumorskim stanicama. Iako logika nalaže da bi povećana ekspresija PD-L1 na tumoru mogla značiti i uspješnije liječenje, neka su istraživanja dokazala da su i bolesnici s PD-L1-negativnim tumorima odgovorili na primjenu anti-PD-1/PD-L1 protutijela. Izražaj PD-L1 je reguliran gama-interferonom, što znači da izražaj ne mora biti konstantan i može se vremenom mijenjati. Stoga, iako su bolesnici s pozitivnim PD-L1 imali nešto bolji odgovor na terapiju, prisutnost ili odsutnost PD-L1 nije idealan prediktivan pokazatelj (22). Drugi pokazatelj mogla bi biti tzv. „mikrosatelitska nestabilnost“, tj. smanjena sposobnost stanica da poprave krivo sparene molekule DNK. Takve stanice bi imunosni sustav lakše trebao prepoznati kao strane i potom ih napasti. „Mikrosatelitska nestabilnost“ kod karcinoma kolona povezana je s boljim odgovorom na terapiju inhibitorima kontrolnih točaka. Taj pokazatelj mogao bi biti koristan u odlučivanju vrste budućeg liječenja (15, 23). Gubitak metilnih skupina na DNK (demetilacija) povezan je s određenim tumorskim genima. Takvi tumori s demetiliranom DNK mogli bi biti lakše prepoznati od strane imunosnog sustava zbog ekspresije „stranih“ antigena i time bi mogli biti pogodni za liječenje terapijom inhibicije kontrolnih točaka (15, 24). Infiltracija tumora i okolnog područja određenim vrstama T-limfocita (CD8+ i CD3+) može biti vrlo dobar prognostički pokazatelj liječenja (engl. *immunoscore*) (25). Kod karcinoma kolona, dokazano je da je vrijeme potrebno za relaps bolesti nakon liječenja dulje u bolesnika s višom infiltracijom tumorskog tkiva T-limfocitima. Prema istom istraživanju,

takav je način prognoziranja uspješnosti liječenja bio pouzdaniji od onoga donesenog na temelju TNM-klasifikacije ili „mikrosatelitske nestabilnosti“ (26).

Rezultati primjene i odgovori na liječenje

Blokada CTLA-4 i PD-(L)1 pokazala se korisnom u borbi protiv tumora. Međutim, postotak bolesnika koji odgovori na terapiju (engl. *response rate*) je poprilično nizak. Primjenom inhibitora negativne povratne sprege često se razvija adaptivna rezistencija tumora na tu vrstu liječenja. Zbog toga se nova istraživanja fokusiraju na primjenu tih lijekova zajedno s nekim od standardnih načina liječenja, poput kemoterapije, radioterapije, drugih vrsta imunoterapije ili tzv. „ciljane terapije“. Na taj način pokušava se dobiti maksimalna terapijska korist od inhibitora kontrolnih točaka sa ciljem boljeg izliječenja onkoloških pacijenata (15).

Jedan od već spomenutih načina za poboljšavanje terapijskog učinka je kombinacija anti-CTLA-4 s anti-PD-(L)1. Svaka od tih molekula je regulator negativne povratne sprege, ali način njihova djelovanja nije potpuno isti, pa se njihovom kombinacijom zbog sinergističkog djelovanja može postići veća mogućnost za odgovor na terapiju i time manji stupanj rezistencije (27). Neke od tih kombinacija već su odobrene za kliničku primjenu, kao već spomenuta kombinacija nivolumaba (anti-PD-1) i ipilimumaba (anti-CTLA-4). Druge kombinacije se istražuju pa uskoro možemo očekivati nova odobrenja za kliničku primjenu (28).

Yun i suradnici (29) su uspoređivali studije koje su se bavile liječenjem neresektabilnog metastatskog melanoma. U studijama se se koristili blokatori inhibicijskog puta na T-limfocitima i njihov se učinak uspoređivao sa kemoterapijom ili antitumorskim cjepivom. Ukupno jednogodišnje preživljenje kod uporabe blokatora bilo je 51.2% u usporedbi s 38.8% kod uporabe drugih metoda. Ukupan šestomjesečni odgovor na terapiju (eng. *overall response rate*) kod liječenja blokatorima također je bio viši (29.6%) u usporedbi s kemoterapijom ili

cjepivom (17.7%). Međutim, bolesnici liječeni blokatorima povratne sprege imali su više autoimunosnih nuspojava (13.7% nasuprot 2.4%). Također, dokazan je bolji odgovor na terapiju kod korištenja anti-PD-1 u usporedbi s anti-CTLA-4 protutijelima (29).

Kombinacije blokatora kontrolnih točaka s drugim vrstama terapije

Kombinacija radioterapije i blokade povratne sprege na T-limfocitima je jedan od obećavajućih načina liječenja tumora. Naime, radioterapija ne djeluje samo direktno na tumorske stanice, nego svojim djelovanjem povećava i imunosni odgovor protiv tumora. Kada se radioterapijom djeluje na žarište tumora, može se dogoditi da se smanje ili nestanu metastaze koje nisu bile u snopu zračenja. Taj se učinak na engleskom naziva *abscopal effect.* On nastaje kada se oslobode tumorski antigeni iz zračenjem uništenih stanica i na te antigene se razvije specifičan imunosni odgovor (30). Zbog toga se kombinacijom navedenih načina liječenja može pojačati efikasnost blokatora inhibicijskih molekula. Prva klinička istraživanja nisu donijela očekivane rezultate, ali, prema riječima Kyi i suradnika (28), mnoga druga se trenutno odvijaju.

Slično radioterapiji, kombinacija s kemoterapijom također bi mogla donijeti bolje rezultate. Osim citotoksičnosti kemoterapija također pojačava imunosni odgovor na tumor. Na primjer, ciklofosfamid pojačava učinak specifičnih CD4+ i CD8+ stanica (15). U nekim istraživanjima je dokazana dobra podnošljivost takve kombinacije u smislu pojavnosti nuspojava. Također, kemoterapija može djelovati imunosupresivno na organizam u određenom trenutku, i zato nije svejedno u kojem trenutku liječenja kemoterapijom dodajemo inhibitore kontrolnih točaka. Odgovor na to pitanje kao i sigurnost u vidu nuspojava trebali bi doći kao rezultat trenutnih studija (28).

Inhibitori tirozin kinaze povećavaju infiltraciju tumora limfocitima. Međutim, kod kombinacije s inhibitorima negativne povratne sprege potreban je povećani oprez zbog toga

što su rana istraživanja dokazala povećanu toksičnost, najviše hepatotoksičnost. Međutim, novija istraživanja dokazuju da takva toksičnost ovisi o tome koji se inhibitor tirozin kinaze koristi (15, 28). Kombinacija s VEGF inhibitorima se u dosadašnjim kliničkim istraživanjima pokazala kao učinkovita, iako su nuspojave bile nešto češće nego kod kod zasebnog korištenja istih lijekova (28, 31).

Antitumorska cjepiva također povećavaju infiltraciju tumora sa T-limfocitima. Ta cjepiva u sebi sadržavaju antigene specifične za određeni tumor. Te antigene prepoznaje imunosni sustav i stvaraju se tzv. „tumor specifični" T-limfociti koji zatim djeluju protiv tumora. Korištenje antitumorskih cjepiva je trenutno možda i najbolji način da se poveća infiltracija tumora limfocitima. Zbog mehanizma djelovanja cjepiva, logično je očekivati da bi nadopuna toj terapiji moglo biti korištenje protutijela protiv inhibicijskih molekula na limfocitima. Prema navodima Kleponisa i suradnika (32), prva istraživanja u tom području dokazala su da je kombinacija tih vrsta liječenja učinkovitija od svakog od njih zasebno. Cjepiva mogu smanjiti rezistenciju tumora na liječenje anti-PD-1 ili anti-CTLA-4 protutijelima, dok ta ista protutijela povećavaju učinkovitost cjepiva. Još veći učinak mogao bi se postići kombinacijom cjepiva sa kombinacijom anti-PD-1 i anti-CTLA-4. U tom slučaju nuspojave bi mogle biti nešto izraženije, ali potrebne su daljnje studije za dokazivanje. Zaključno, kombinacija antitumorskih cjepiva s terapijom blokade kontrolnih točaka je sinergistička i postoji mogućnost da će u budućnosti biti vrlo značajna (32).

Mjerenje odgovora na terapiju

Kod određivanja stupnja odgovora na terapiju, vrlo su bitni radiološki kriteriji. Najvažniji od njih je tzv. RECIST (engl. *response evaluation criteria in solid tumors*). Osim toga, razvijeni su i drugi kriteriji specifični za imunoterapiju (engl. *immune related response criteria*- irRC). Ti su kriteriji razvijeni da nadopune moguće nedostatke RECIST-a kod interpretiranja rezultata kliničkih istraživanja. Također, kao poboljšanje RECIST-a, nedavno je razvijen

imunoRECIST (iRECIST) (3, 15). Sve to služi boljoj interpretaciji odgovora na terapiju i njene uspješnosti u kliničkim istraživanjima ili kod korištenja već odobrenih lijekova. Kod liječenja inhibicijom kontrolnih točaka postoji nekoliko mogućih odgovora na terapiju (3): smanjenje početnih tumorskih lezija, stabilna bolest, pseudoprogresija i pojavljivanje novih lezija. Pseudoprogresiju valja istaknuti kao jednu od specifičnosti ovakvog načina liječenja. Naime, veličina tumora je najvažniji radiološki parametar kod procjene uspješnosti liječenja. Kod ovakvog načina liječenja, često se dogodi da tumor počinje rasti nakon primjene terapije, što može trajati nekoliko tjedana ili čak mjeseci. To se događa zato jer limfociti pojačano infiltriraju tumor i posljedično, radiološki nalaz pokazuje da je tumor narastao. Pseudoprogresija događa se, na primjer, u oko 10-15% pacijenata s melanomom. Takva „lažna“ progresija ne znači da se radi o neuspješnosti terapije, već se samo radi o kasnijem radiološkom odgovoru. Naravno, u tom stadiju liječenja teško je razlikovati pseudoprogresiju od stvarnog rasta tumora i neuspješnog odgovora na terapiju. To je potrebno uzeti u obzir kod određivanja parametara kojima ocjenjujemo uspješnost terapije pa zbog toga rani stupanj odgovora na terapiju nije dobar pokazatelj uspješnosti. Mnogo je bolji pokazatelj ukupno preživljenje pacijenata liječenih takvom vrstom imunoterapije. Zbog te specifičnosti, treba biti oprezan jer neki bolesnici mogu imati kasniji odgovor na terapiju i posljedičnu korist od takvog liječenja. U suprotnome, moglo bi se dogoditi da zbog radiološkog povećanja tumora prekinemo liječenje i uskratimo takvim bolesnicima potencijalnu korist od terapije. Jedan od načina koji nam može pomoći u razlikovanju prave progresije i pseudoprogresije je često mjerenje lezija, a nakon ustanovljenog povećanja tumora, prije no što prekinemo terapiju bilo bi dobro ponovno mjeriti tumor nakon barem 4 tjedna (3, 15). Ranije spomenuti kriteriji specifični sa imunoterapiju (irRC) uzimaju u obzir pseudoprogresiju, tj. novonastale lezije nakon početka terapije (33).

Molekularne interakcije i razlike između CTLA-4 i PD-1 blokade

Molekule/receptori CTLA-4 i PD-1 sudjeluju u regulacijskom putu imunosnog odgovora. Već je ranije spomenuto da blokadom bilo koje od tih molekula možemo blokirati i inhibiciju imunosnog odgovora u borbi protiv tumora. Međutim, način na koji te molekule reguliraju imunosni odgovor je različit. Iz toga proizlazi da bi blokadom jedne molekule, npr. CTLA-4, mogli dobiti različiti odgovor u usporedbi s blokadom druge molekule (PD-1). CTLA-4 regulira T-limfocite u početnoj fazi njihove aktivacije i sprječava ili slabi takvu aktivaciju regulacijom proliferacije. Blokada PD-1 važnija je za eferentnu fazu imunosne reakcije. Također, djelovanje CTLA-4 vezano je uglavnom za limfno tkivo, tj. limfne čvorove dok je funkcija PD-1 bitna za eferentnu fazu na perifernim tkivima. Razlog tome je raspodjela liganda za te receptore: B7 (CD80/86) ligandi za CTLA-4 se nalaze uglavnom na tzv. stanicama koje prezentiraju antigen, koje su u limfnim čvorovima. Distribucija receptora PD-L1 i PD-L2 je mnogo veća: nalaze se na dendritičkim stanicama, monocitima i različitim tumorima. PD-L1/2 ligandi mogu se naći i na stanicama parenhima zbog stimulacije proupalnih citokina. Čak i između PD-L1 i PD-L2 postoje određene razlike pa se time tumači donekle različito djelovanje i nuspojave određenih lijekova, npr. blokatora PD-1 u usporedbi s blokatorima PD-L1. Primjećeno je da je učestalost autoimunosnih nuspojava, tj. imunosno posredovanih nuspojava (engl. *immune-mediated adverse events-imAE*) kod blokade PD-1 nešto niža u usporedbi s blokadom CTLA-4. Razlog tome je što PD-1 regulira već aktivirane T-limfocite u eferentoj fazi imunosnog odgovora, dok CTLA-4 može smanjiti samu aktivaciju limfocita. Zbog toga je CTLA-4 blokada manje selektivna i donosi više takvih nuspojava (34).

Nuspojave liječenja blokatorima kontrolnih točaka

Inhibicijski put na T-limfocitima razvijen je da bi spriječio autoimunost, tj. prejaku i nepotrebnu reakciju imunosnog sustava i reakciju imunosnog sustava na vlastita zdrava tkiva. Ukoliko liječenjem blokiramo tu inhibiciju, dolazi do opasnosti od razvijanja autoimunosnih

nuspojava. Takve nuspojave su vrlo česte. Prema Thallingeru i suradnicima (15), kod blokade CTLA-4 do njih dolazi u 7 od 10 bolesnika, a kod PD-1 blokade takve nuspojave su prisutne u 3 od 10 bolesnika. Primijećeno je da učestalost nuspojava kod blokade CTLA-4 raste sa povećanjem doze lijeka, dok kod blokade PD-1 ta povezanost nije utvrđena. Najčešće nuspojave su umor i dermatološke nuspojave u obliku crvenila i pruritusa. Takve se nuspojave manifestiraju vrlo rano na početku liječenja. Nešto kasnije javljaju se gastrointestinalne nuspojave (npr. kolitis i dijareja), a još kasnije dolazi do endokrinih nuspojava (npr.tiroiditis) i autoimunog hepatitisa. Od ostalih nuspojava valja izdvojiti uveitis, miokarditis, pneumonitis i pankreatitis (2, 3, 28). Potrebno je istaknuti i neurološke nuspojave. One nisu česte, ali mogu biti vrlo ozbiljne. Neke od njih su aseptički meningitis, enterička neuropatija i Guillan-Barreov sindrom (35). Većina nastalih nuspojava je blagog karaktera i uglavnom ne ograničava liječenje. Problem je u određenom postotku teških nuspojava koje, osim što ugrožavaju liječenje i uzrokuju prekid terapije, mogu biti i po život opasne. Primjer takve nuspojave je jaki kolitis koji može uzrokovati perforaciju (3). Poseban oprez potreban je kod kombinacije anti CTLA-4 i anti PD-1 jer je tada primijećena veća učestalost nuspojava. Potrebna su daljnja istraživanja da se točnije utvrdi učestalost tih nuspojava kod kombinacija lijekova, ali do sada je primijećeno da se većina tih neželjenih posljedica može kontrolirati čime se dobiva veća korist od korištenja kombinacije u usporedbi s liječenjem jednim lijekom (28). Kod samostalnog korištenja protutijela protiv jedne od tih molekula primijećena je, osim učestalosti, razlika i u vrsti nuspojava. Mukozitis, suhoća usta, i transaminitis pojavljuju se nešto češće kod blokade CTLA-4 u usporedbi s blokadom PD-1 (2). U bolesnika koji od ranije boluju od autoimunosnih bolesti uporaba ovakve terapije mogla bi biti kontraindicirana. Za sada se takvi bolesnici ne uključuju u istraživanja i nema mnogo podataka o tome. Međutim, prema navodima La-Beck i suradnika (2), neki slučajevi su pokazali da se i u određenih bolesnika s autoimunim bolestima ipak može primijenjivati ovakva terapija.

Nuspojave mogu biti lakše i teže. Lakše nuspojave je dovoljno pratiti ili liječiti suportivnom terapijom, ali teže nuspojave mogu zahtijevati prekid liječenja. Ranije je spomenuto da neke nuspojave mogu ugroziti život, a to može ovisiti i o osnovnoj bolesti. Na primjer, u bolesnika s karcinomom pluća, pneumonitis može biti vrlo ozbiljna i opasna nuspojava zbog već kompromitirane plućne funkcije. Težina nuspojave i priroda osnovne bolesti pomažu da se donese odluka o daljnjim postupcima. Najčešći način liječenja imunosno posredovanih nuspojava je korištenje imunosupresiva. Najviše se koriste kortikosteroidi, ali uspjeh pokazuje i liječenje infliksimabom i mikofenolat-mofetilom (2, 3).

Za dermatološke nuspojave koriste se topikalni kortikosteroidi i oralni antipruritici, a ukoliko su nuspojave ozbiljnije, daju se oralni kortikosteroidi. Druga vrlo česta nuspojava je dijareja. Kod blokade CTLA-4 ona se pojavljuje mnogo češće nego što je to slučaj kod anti PD-1 lijekova. Slijedeća gastrointestinalna nuspojava, kolitis, javlja se mnogo rjeđe od dijareje. Takva stanja se u početku liječe promjenom prehrane, a kasnije kortikosteroidima. Kortikosteroidi se pokušavaju koristiti i profilaktički, ali bez većeg uspjeha. U profilaksi hepatitisa, prije svake doze ipilimumaba potrebno je laboratorijski mjeriti parametre jetrene funkcije (35).

Ostale molekule signalnog puta na koje se može djelovati

Većina istraživanja koja su se bavila blokadom kontrolnih točaka fokusirala su se na blokadu CTLA-4, PD-1 ili PD-L1. Dosad odobreni i dostupni lijekovi blokiraju neke od tih molekula. Međutim, postoje i druge molekule tzv. „drugog signala“ na T-limfocitima i drugim stanicama. Jedna od njih je **LAG-3** (CD223). Lag-3 (engl. *Lymphocyte Activation Gene-3*) prisutan je na T i B limfocitima, dentritičkim i NK stanicama. Prema Torphyju i suradnicima (17), pretklinička istraživanja dokazuju da LAG-3 također sudjeluje u inhibiciji imunosnog odgovora i da se njegovom blokadom može postići pojačana aktivnost i proliferacija limfocita, slično kao i kod blokade PD-1. Blokator LAG-3, IMP321, je topljivi oblik LAG-3

proteina. Osim blokade LAG-3, IMP321 direktno djeluje na dendritičke stanice koje potiče na aktivaciju. Zbog tog mehanizma mogao bi biti zanimljiv za kliničku upotrebu jer mu učinak može biti malo različitiji od ostalih, dosad odobrenih lijekova. Rezultati prvih istraživanja koja su koristila IMP321 u kombinaciji s antitumorskim cjepivom su obećavajuća. Daljnja klinička istraživanja su u tijeku. Druga molekula od interesa je **BTLA** (*engl. B and T Lymphocyte Attenuator*) i njen ligand HVEM, a ta interakcija dakođer odašilje inhibitorni signal T-limfocitima. Protutijela protiv BTLA i HVEM su trenutno u fazi pretkliničkih istraživanja. Postoje i druge molekule na koje se može djelovati, a koje su u kliničkoj fazi istraživanja. Neke od njih su PD-1H (engl. *Programmed Death-1 Homolog*) i TIM-3 (engl. *T-Cell Immunoglobulin- and Mucin-Domain-Containing Molecule*). Obje su trenutno u prvoj fazi kliničkih istraživanja. Sve te molekule mogle bi poboljšati opcije liječenja sa inhibitorima kontrolnih točaka. Kombinacijom protutijela koja djeluju na više takvih molekula odjednom, možda će se postići bolji odgovor na terapiju (17).

Slijedeći receptor koji bi valjalo spomenuti je **OX40**. OX40 spada u TNF skupinu receptora i također regulira imunosni odgovor. Međutim, za razliku od svih dosad spomenutih receptora, vezanje OX40 na njegov ligand, OX40L, potiče sazrijevanje T-limfocita. Dakle, da bismo mogli povećati imunosni odgovor preko OX40 receptora, potrebno je koristiti protutijela koja su agonisti za taj receptor. Njegova ekspresija na T-limfocitima se povećava kada TCR receptor prepozna antigen i pod utjecajem citokina, kao i kod CTLA-4. Ali, za razliku od CTLA-4:CD80 interakcije, interakcija OX40 sa svojim ligandima stimulira imunosni odgovor. Prema Linch i suradnicima (36), u nekoliko pretkliničkih istraživanja postignuta je regresija tumora korištenjem agonista OX40. U tijeku su i klinička istraživanja koja ispituju uspjeh takvog načina liječenja. Toksičnost takvog načina liječenja je niža od one koja nastaje blokadom CTLA-4. Kombinacija OX40 agonista i anti CTLA-4/PD-1 mogla bi biti povoljna zbog kostimulacijskog djelovanja. Na primjer, agonisti OX40 povećavaju ekspanziju T-

limfocita koji na sebi imaju PD-1 receptore, a na koje djeluje anti-PD-1. Također, upalni odgovor potaknut agonistima OX40 potiče ekspresiju IFN-γ koji opet potiče ekspresiju PD-L1 na tumorskim stanicama. Na taj se način može djelovati blokatorima PD-1/PD-L1 u kombinaciji sa agonistima OX40 (36).

Zaključak

Kroz pregled objavljenih članaka i radova o imunoterapiji protutijelima protiv molekula kontrolnih točaka T-limfocita može se zaključiti da će primjena takvih lijekova biti još više zastupljena u budućnosti. Na taj će se način proširiti lepeza mogućnosti u liječenju tumora. Naglasak je na njihovoj uporabi u kombinaciji sa drugim metodama, prvenstveno antitumorskim cjepivom i kemoterapijom, ali i s drugim načinima liječenja. Time bi se mogla povećati stopa odgovora na liječenje koja može biti niska kod korištenja takvih lijekova kao jedine terapije. Neka se istraživanja bave i aspektom prediktvnih faktora i biomarkera koji će također biti vrlo važni kod korištenja ovakve terapije. Druga istraživanja bave se novim molekulama na koje možemo djelovati, a čiji je učinak sličan dosad spomenutim PD-1 i CTLA-4. Zaključno, znanja o takvim molekulama i njihovom djelovanju potrebno je dopuniti novim istraživanjima koja će ići u smjeru otkrivanja boljih biomarkera, novih molekula i upoznavanju detaljnijeg mehanizma djelovanja negativne povratne sprege u imunoterapiji.

Zahvale

Zahvaljujem se mentoru, prof. dr. sc. Antoniu Juretiću na pruženoj prilici za izradu ovog rada i pomoć pri pisanju istog.

Zahvale idu i mojoj obitelji i svim prijateljima koji su me podržavali za vrijeme izrade rada i držali me u dobrom raspoloženju.

Literatura

1. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2014., Bilten 39, Zagreb, 2016.
2. La-Beck NM, Jean GW, Huynh C, Alzghari SK, Lowe DB. Immune checkpoint inhibitors: New insights and current place in cancer therapy. Pharmacotherapy. 2015 Oct;35(10):963-76.
3. Pennock GK, Chowb LQM. The evolving role of immune checkpoint inhibitors in cancer treatment. Oncologist. 2015 Jul; 20(7): 812–822
4. Nature [internet] Springer Nature © 2017 Macmillan Publishers Limited, part of Springer Nature. All Rights Reserved. [pristupljeno 13.12.2017.] Dostupno na: https://www.nature.com/subjects/cancer-immunotherapy
5. Juretić A, Bašić-Koretić M. Klinička imunoterapija raka blokadom molekularnih interakcija negativne povratne sprege. Liječ Vjesn 2017; 139:168-172
6. Disis ML. Mechanism of Action of Immunotherapy. Semin Oncol. 2014 Oct;41 Suppl 5:S3-13
7. Lee L, Gupta M, Sahasranaman S. Immune checkpoint inhibitors: An introduction to the next-generation cancer immunotherapy. J Clin Pharmacol. 2016 Feb;56(2):157-69.
8. Dine J, Gordon R, Shames Y, Kasler MK, Barton-Burke M. Immune Checkpoint Inhibitors: An Innovation in Immunotherapy for the Treatment and Management of Patients with Cancer. Asia Pac J Oncol Nurs. 2017 Apr-Jun;4(2):127-135.
9. Ito A1, Kondo S2, Tada K3, Kitano S4. Clinical development of immune checkpoint inhibitors. Biomed Res Int. 2015;2015:605478.
10. Naidoo J, Page DB, Wolchok JD. Immune modulation for cancer therapy. Br J Cancer. 2014 Dec 9;111(12):2214-9.
11. Gorczynski RM, Zhu F. Checkpoint blockade in solid tumors and B-cell malignancies, with special consideration of the role of CD200. Cancer Manag Res. 2017; 9: 601–609.
12. Lesokhin AM, Ansell SM, Armand P, Scott EC, Halwani A, Gutierrez M i sur. Nivolumab in patients with relapsed or refractory hematologic malignancy: Preliminary results of a phase Ib study. J Clin Oncol. 2016 Aug 10;34(23):2698-704
13. Rizvi NA, Mazières J, Planchard D, Stinchcombe TE, Dy GK, Antonia SJ i sur. Activity and safety of nivolumab, an anti-PD-1 immune checkpoint inhibitor, for patients with advanced, refractory squamous non-small-cell lung cancer (CheckMate 063): a phase 2, single-arm trial. Lancet Oncol. 2015 Mar;16(3):257-65
14. Westin JR, Chu F, Zhang M, Fayad LE, Kwak LW, Fowler N i sur. Safety and activity of PD1 blockade by pidilizumab in combination with rituximab in patients with relapsed follicular lymphoma: a single group, open-label, phase 2 trial. Lancet Oncol. 2014 Jan;15(1):69-77
15. Thallinger C, Füreder T, Preusser M, Heller G, Müllauer L, Höller C, i sur. Review of cancer treatment with immune checkpoint inhibitors: Current concepts, expectations, limitations and pitfalls. Wien Klin Wochenschr. 2017 Nov 2. doi: 10.1007/s00508-017-1285-9. [Epub ahead of print]

16. Kourie HR, Awada G, Awada AH. Learning from the "tsunami" of immune checkpoint inhibitors in 2015. Crit Rev Oncol Hematol. 2016 May;101:213-20
17. Torphy RJ, Schulick RD, Zhu Y. Newly emerging immune checkpoints: Promises for future cancer therapy. Int J Mol Sci. 2017 Dec 6;18(12)
18. European Medicines Agency [internet]. 30 Churchill Place, Canary Wharf, London E14 5EU,United Kingdom. [pristupljeno 12.12.2017.] Dostupno na: http://www.ema.europa.eu/ema/
19. Delyon J, Mateus C, Lefeuvre D, Lanoy E, Zitvogel L, Chaput N i sur. Experience in daily practice with ipilimumab for the treatment of patients with metastatic melanoma: an early increase in lymphocyte and eosinophil counts is associated with improved survival. Ann Oncol. 2013 Jun; 24(6):1697-703
20. Ku GY, Yuan J, Page DB, Schroeder SE, Panageas KS, Carvajal RD i sur. Single-institution experience with ipilimumab in advanced melanoma patients in the compassionate use setting: lymphocyte count after 2 doses correlates with survival. Cancer. 2010 Apr 1; 116(7):1767-75.
21. Hopkins AM, Rowland A, Kichenadasse G, Wiese MD, Gurney H, McKinnon RA. Predicting response and toxicity to immune checkpoint inhibitors using routinely available blood and clinical markers. Br J Cancer. 2017 Sep 26;117(7):913-920
22. Sharma P. Immune checkpoint therapy and the search for predictive biomarkers. Cancer J. 2016 Mar-Apr; 22(2): 68–72.
23. Kwon Y, Park M, Jang M, Yun S, Kim WK, Kim S i sur. Prognosis of stage III colorectal carcinomas with FOLFOX adjuvant chemotherapy can be predicted by molecular subtype. Oncotarget. 2017;8(24):39367–81.
24. Li J, Zou X, Li C, Zhong J, Chen Y, Zhang X i sur. Expression of novel cancer/testis antigen TMEM31 increases during metastatic melanoma progression. Oncol Lett. 2017;13(4):2269–73.
25. Voong KR, Feliciano J, Becker D, Levy B. Beyond PD-L1 testing-emerging biomarkers for immunotherapy in non-small cell lung cancer. Ann Transl Med. 2017 Sep;5(18):376.
26. Galon J, Mlecnik B, Marliot F, i sur. Validation of the immunoscore (IM) as a prognostic marker in stage I/II/III colon cancer: Results of a worldwide consortium-based analysis of 1,336 patients. J Clin Oncol 2016;34:abstr 3500
27. Korman A, Chen B, Wang C, Wu L, Cardarelli P, Selby M. Activity of anti- PD-1 in murine tumor models: role of "host" PD-L1 and synergistic effect of anti-PD-1 and anti-CTLA-4. J. Immunol. 2007;178(S82):48.1–48.40.
28. Kyi C, Postow MA. Immune checkpoint inhibitor combinations in solid tumors: opportunities and challenges. Immunotherapy. 2016 Jun;8(7):821-37.
29. Yun S, Vincelette ND, Green MR, Wahner Hendrickson AE, Abraham I. Targeting immune checkpoints in unresectable metastatic cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis of anti-CTLA-4 and anti-PD-1 agents trials. Cancer Med. 2016 Jul;5(7):1481-91.
30. Hu ZI, McArthur HL, Ho AY. The abscopal effect of radiation therapy: What is it and how can we use it in breast cancer? Curr Breast Cancer Rep. 2017;9(1):45-51.

31. Hodi FS, Lawrence D, Lezcano C, Wu X, Zhou J, Sasada T. Bevacizumab plus ipilimumab in patients with metastatic melanoma. Cancer Immunol Res. 2014 Jul; 2(7):632-42.
32. Kleponis J1, Skelton R1, Zheng L. Fueling the engine and releasing the break: combinational therapy of cancer vaccines and immune checkpoint inhibitors. Cancer Biol Med. 2015 Sep;12(3):201-8.
33. Postow MA, Callahan MK, Wolchok JD. Immune Checkpoint Blockade in Cancer Therapy. J Clin Oncol. 2015 Jun 10;33(17):1974-82.
34. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways similarities, differences, and implications of their inhibition. Am J Clin Oncol. 2016 Feb; 39(1): 98–106.
35. Postow MA. Managing immune checkpoint-blocking antibody side effects. Am Soc Clin Oncol Educ Book. 2015:76-83.
36. Linch SN, McNamara MJ, Redmond WL. OX40 Agonists and Combination Immunotherapy: Putting the Pedal to the Metal. Front Oncol. 2015 Feb 16;5:34.

Životopis

Marko Mežnarić rođen je u Zagrebu 1990. godine.

1997-1999. Osnovna škola „Antun Branko Šimić“, Zagreb

1999-2005. Osnovna škola „Antun Gustav Matoš“, Zagreb

2005-2009. II.gimnazija, Zagreb

2011-2018. Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu