

Sveučilište u Zagrebu  
Medicinski fakultet

**Ljubica Vukšić**

**Uloga inhibitora B staničnog limfoma – 2  
u liječenju zloćudnih novotvorina dojke i jajnika**

**Završni specijalistički rad**

Zagreb, srpanj 2022. godine

Mentorica: izv. prof. dr. sc. Natalija Dedić Plavetić, uži specijalist internističke onkologije

Redni broj rada:

Zahvaljujem mentorici izv. prof. dr. sc. Nataliji Dedić Plavetić na savjetima i prenesenom znanstvenom i stručnom iskustvu u pisanju ovog rada.

Zahvaljujem svojoj obitelji na podršci i razumijevanju tijekom cijelog poslijediplomskog studija kao i tijekom pripreme ovog rada.

## POPIS OZNAKA I KRATICA

BCL-2 inhibitor = B cell lymphoma-2 inhibitor; *Inhibitor B staničnog limfoma-2*

CA125 = „Karcinom antigen 125“ tumorski biljeg

DNA = Deoksiribonukleinska kiselina

DFS = „Disease free survival“; *Preživljenje bez znakova bolesti*

ER = Estrogen receptor

FAS = First apoptotic signal; *Prvi apoptotički signal*

HER2 = Human Epidermal Growth Factor2; *Ljudski epidermalni faktor rasta 2*

MEK= Mitogen aktivirajuća protein kinaza

mRNA= Messenger Ribonucleic Acid ; *Glasnička ribonukleinska kiselina*

PR = Progesteron receptor

RNA= Ribonucleic Acid; *Ribonukleinska kiselina*

TNF = Tumor necrosis factor; *Faktor nekroze tumora*

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD .....</b>	<b>6</b>
1.1. Obilježja raka .....	6
1.2. Apoptoza .....	7
1.3. Protein B staničnog limfoma-2 (BCL-2).....	8
1.4. Važnost proteina B staničnog limfoma -2 u zloćudnim novotvoreninama	11
<b>2. Cilj završnog rada .....</b>	<b>12</b>
<b>3. Materijali i metode .....</b>	<b>13</b>
<b>4. Rezultati .....</b>	<b>14</b>
4.1. Zloćudne novotvorine dojke .....	14
4.2. Zloćudne novotvorine jajnika .....	18
<b>5. Zaključak .....</b>	<b>22</b>
<b>6. Sažetak .....</b>	<b>24</b>
<b>7. Summary.....</b>	<b>25</b>
<b>8. Reference .....</b>	<b>26</b>
<b>9. Životopis .....</b>	<b>32</b>

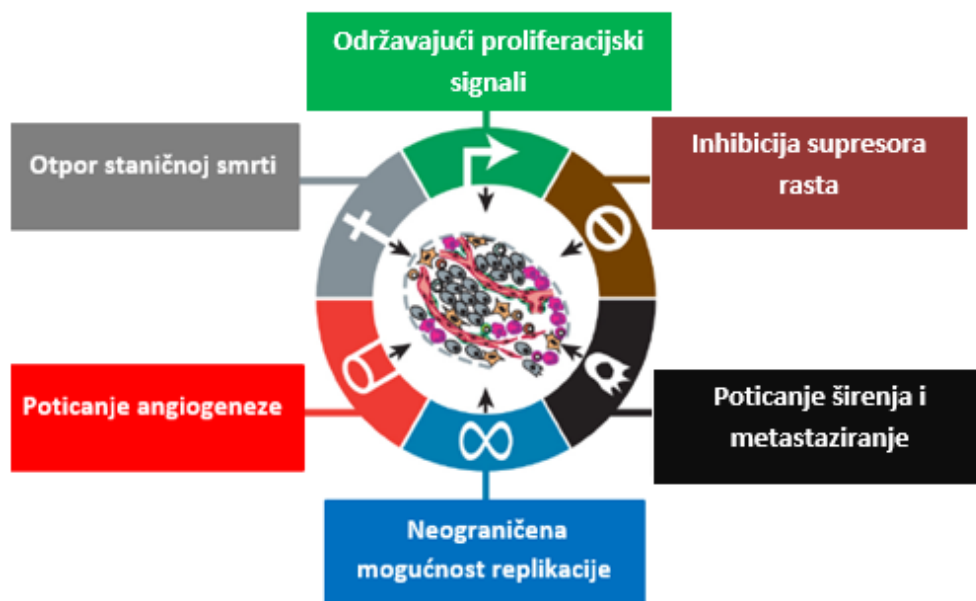
# 1. UVOD

## 1.1. Obilježja zloćudnih novotvorina

Obilježja zloćudnih novotvorina obuhvaćena su sa šest bioloških sposobnosti njihovih stanica razvijenih tijekom složenog procesa njihove zloćudne preobrazbe: održavajući proliferacijski signali, inhibicija supresora rasta, poticanje širenja i metastaziranja, neograničena mogućnost replikacije, poticanje angiogeneze te otpor staničnoj smrti (Slika 1.) (1) .

U podlozi ovih obilježja su nestabilnost genoma koja u konačnici stvara genetsku različitost i dodatnu naglašenost ovih obilježja, te kontinuirani upalni procesi koji ih podržavaju.

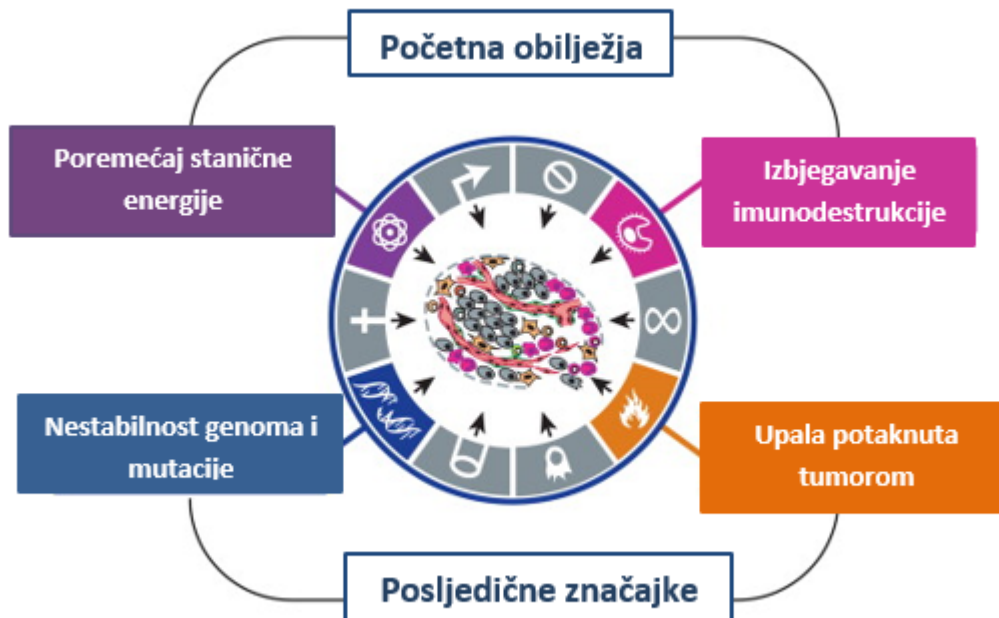
Osim zloćudnih stanica, zloćudne novotvorine pokazuju još jednu dimenziju složenosti; one djelomično sadrže i naizgled normalne stanice koje pridonose zaštiti i održivosti njihovog zloćudnog mikrookruženja.



Slika 1. Prikazani su glavnih šest obilježja zloćudnih novotvorina (1)

Znanstvenici kontinuirano istražuju karcinogenezu, te su nakon ovih prvih spoznaja koja su objavljena 2000. godine, objavili i rad 2011, u kojem sugeriraju još 4 elementa patogeneze vjerojatno svih vrsta zloćudnih novotvorina. (2) Početna obilježja uključuju mogućnost izmjene i reprogramiranja staničnog metabolizma što potiče tumorski rast kao i izbjegavanje

imunološkog odgovora (destrukcije). U posljedične neoplastične značajke pridodali su stjecanje i razvoj genomske nestabilnosti te tumorom potaknutu upalu. (Slika 2.)



Slika 2. Nakon istraživanja objavljenog 2000 godine, osnovnih 6 obilježja zloćudnih novotvorina dopunjeno je s dodatnih četiri. (2)

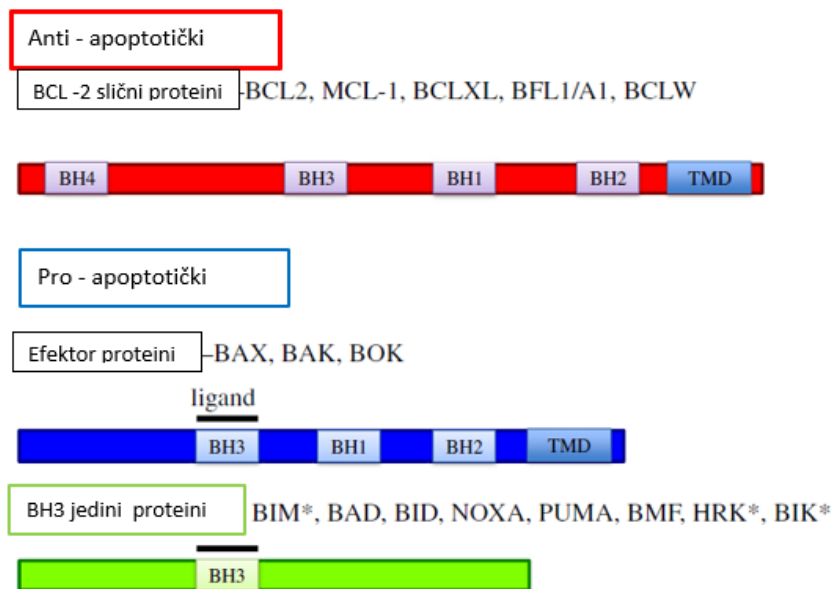
## 1.2 Apoptoza

Apoptoza ili programirana smrt stanice je fiziološki proces koji se pokreće kao odgovor na stanični stres ili na neko drugo patološko stanje (oštećenje DNA, aktivacija onkogeni, radijacija i sl.), a opisali su je davne 1972 g. Kerr i suradnici. (3) Apoptotski procesi igraju ključnu ulogu u staničnoj homeostazi, uključeni su u brojne fiziološke i patološke procese te pravilan embrionalni razvitak. (4) Postoje dva apoptotička puta: ekstrinzični - aktiviran ligandom na površini stanica, npr tumor nekrozis faktorom (TNF - *tumor necrosis factor*) i intrinzični (mitohondrijalni put, u kojem dolazi do aktivacije kaspaza i otpuštanja citokroma C iz mitohondrija u citoplazmu) (5). Koncept u kojem programirana stanična smrt služi kao prirodna barijera nastanku raka je dokazana u nekoliko studija u zadnjih 2 desetljeća. Poremećaj apoptoze rezultira otporom staničnoj smrti (6). U ovom radu usredotočit ću se isključivo na

intrinzični apoptotički put te na nove molekule koje preko njega djeluju, u zloćudnim novotvoreninama dojke i jajnika.

### 1.3. Protein B staničnog limfoma-2

Prvi protein B staničnog limfoma-2 (BCL-2 protein) otkriven je prije više od 35 godina kromosomskim mapiranjem u folikularnom limfomu, u translokaciji t(12;18) (7,8), stoga je i naziv BCL-2 skraćenica od B stanični limfom-2. Do danas je otkriveno preko 16 proteina unutar ove BCL-2 obitelji, od kojih svaki ima jednu ili više BCL-2 homolognih domena a svrstava ih se u dvije skupine: anti-apoptotički i proapoptotički (Slika 3.).

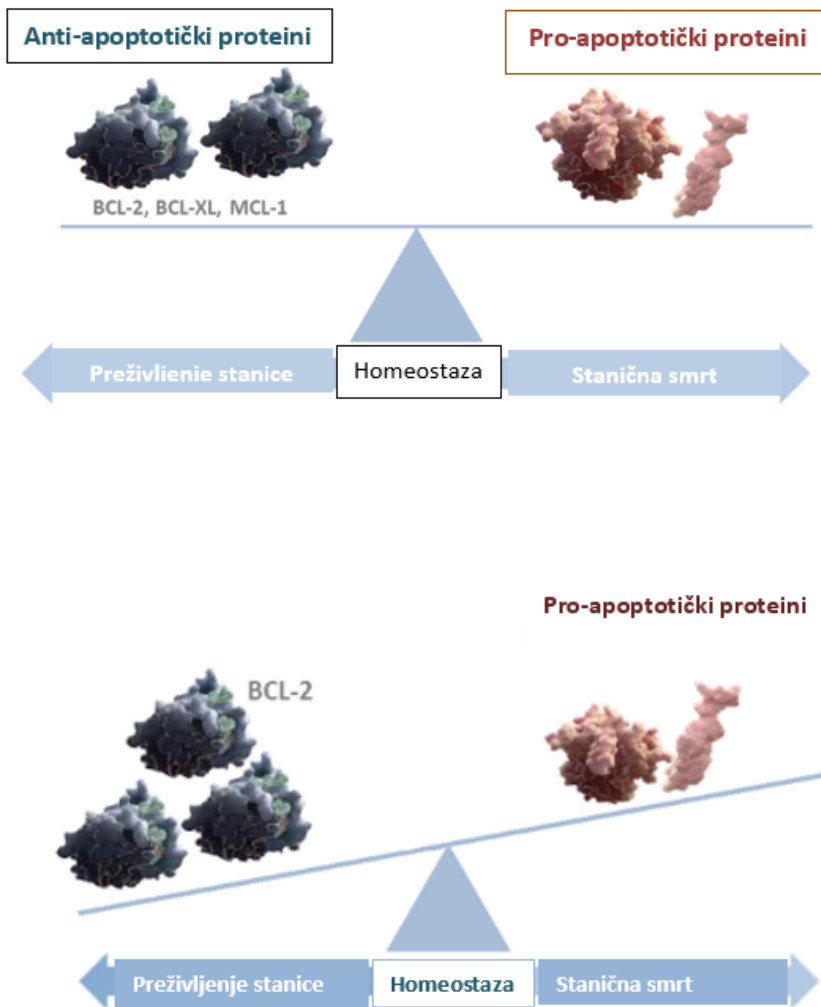


Slika 3. Prikazane su obitelji proteina B staničnog limfoma – 2 (9).

Skupina antiapoptotičkih proteina *BCL-2 slični proteini* održava preživljenje stanice a skupina proapoptotičkih proteina potiče apoptozu. Ovi potonji se dalje dijele na *BH efektor proteine* koji sadržavaju BH1, BH2 i BH3 domene te na *BH3 jedine proteine*.

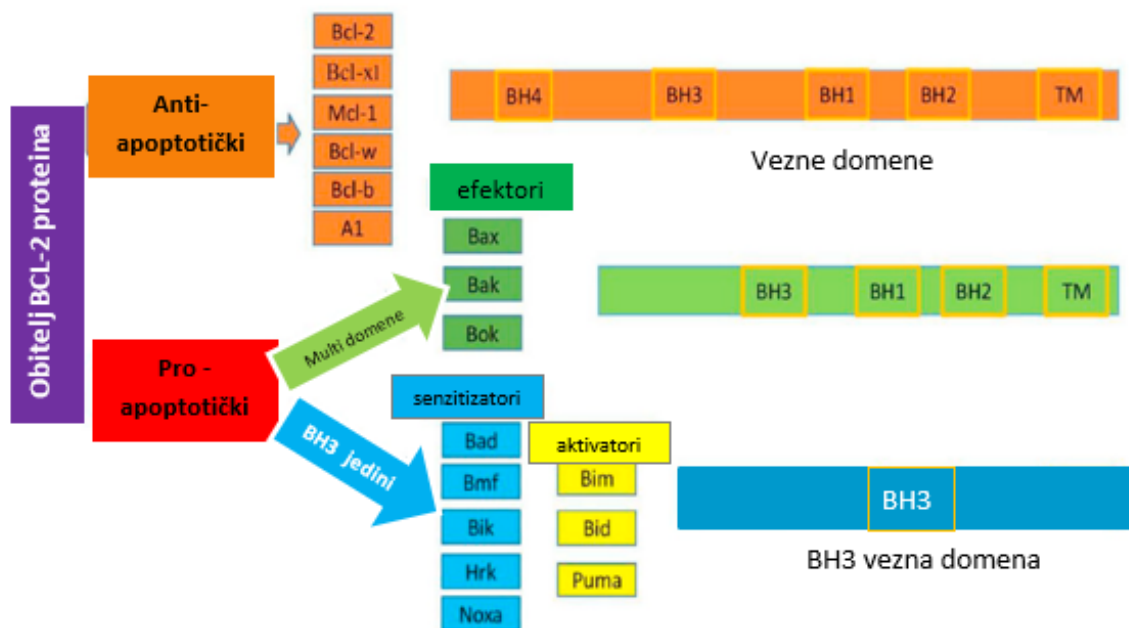
U zdravom organizmu postoji međudjelovanje između antiapoptotičkih i proapoptotičkih članova obitelji koje održava homeostatske mehanizme te na neki način regulira moguću pojavu neželjene apoptoze (Slika 4.).





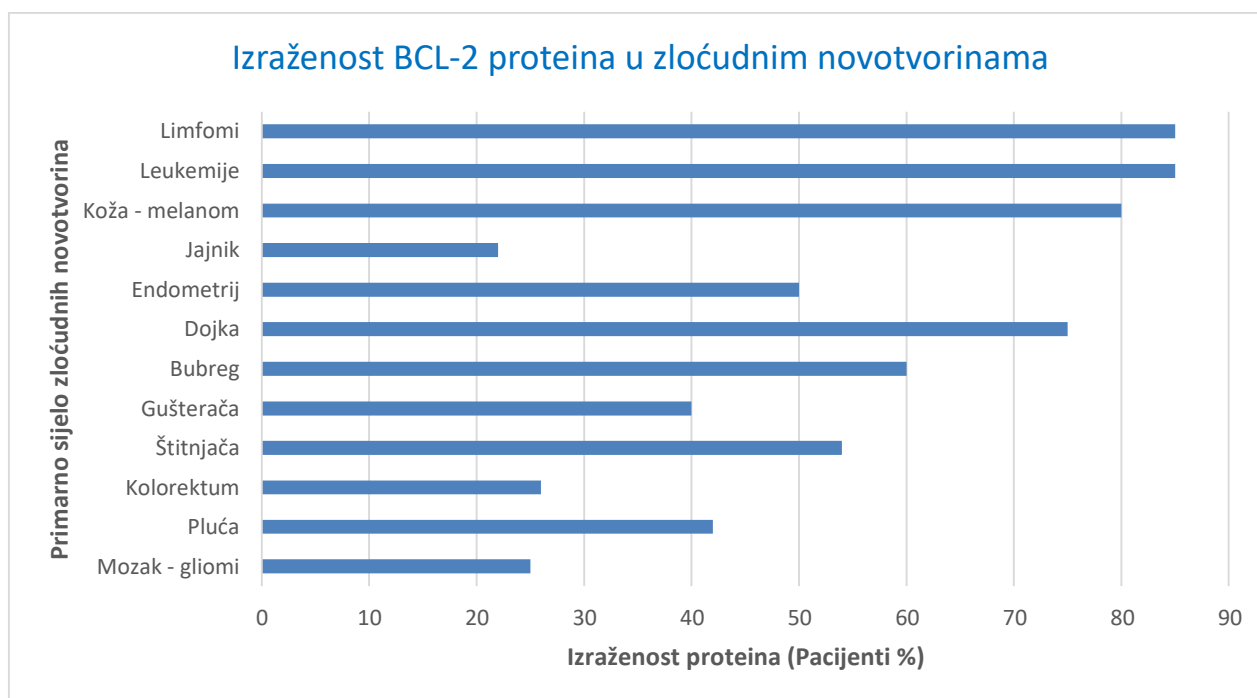
Slika 4. Homeostaza i njezin poremećaj u ovisnosti o koncentraciji pro- i antiapoptotičkih proteina (preuzeto i prerađeno s AbbVie GMA Booth, ASCO 2020).

Unutar proapoptotičke skupine BCL-2 proteina, *BH3 jedini proteini* su pokretači apoptoze. U međusobnim su interakcijama te se u slučaju npr. gubitka funkcije jednog od njih (npr BIK), aktivira PUMA te učinkovito pokreće apoptozu. Dokazano je da je upravo PUMA vrlo bitan čimbenik koji bi mogao razriješiti kemorezistenciju u raku jajnika. Uz PUMU, BID je isto tako iznimno bitan pokretač apoptoze unutar ove skupine *BH3 jedinih proteina* te potiče osjetljivost na kemoterapeutike u raku jajnika u eksperimentalnim uvjetima (9).



Slika 5. Uloga pojedinih proteina unutar BCL-2 obitelji (10)

Anti-apoptotički proteini BCL-2 zastupljeni su u mnogim zloćudnim novotvorinama i njihova kompleksnost predstavlja izazov u otkrivanju točne uloge pojedinih članova obitelji BCL2 proteina u reguliranju apoptoze u raznim histološkim vrstama. (11) Na shematskom prikazu (Slika 6.) vidi se izraženost BCL-2 u raznim histološkim vrstama tumora. Nekoliko je studija pokazalo povezanost visoke koncentracije anti-apoptotičkih proteina koji moduliraju apoptozu kao i odgovor na kemoterapiju. (12,13)



Slika 6. Izraženost BCL-2 proteina u zloćudnim novotvorinama. Stupići predstavljaju detektiranu mRNA BCL-2 proteina u % pacijenata s određenim histološkim tipom zloćudne novotvorine. Prerađeno s [www.proteinatlas.org](http://www.proteinatlas.org)

#### 1.4. Važnost BCL-2 antiapoptičkih proteina u zloćudnim novotvorinama

Antitumorski učinak blokade BCL-2 proteina je prvo opisan u Non-Hodgkinovom limfomu, nakon toga je dokazan u kroničnoj limfatičnoj leukemiji. U akutnoj mijeloičnoj leukemiji je izraženost BCL-2 proteina pokazala povezanost s kemorezistencijom kao i s nepovoljnim kliničkim ishodom. (14,15)

Povišena koncentracija BCL-2 proteina je povezana s rezistencijom na neke lijekove, kao npr. rezistencija na cisplatinu u raku jajnika (16) ili pak na 5-fluorouracil u raku želuca (17), zatim na doksorubicin u osteo- i hondrosarkomu. (18,19)

U solidnim tumorima, među prvima je otkriven njegov onkogeni potencijal u raku jajnika (20), dojke (21), pluća (22) i kože (melanom). (23,24,25)

Uloga BCL-2 obitelji proteina je puno šira od regulacije apoptoze. Na staničnoj je razini prekomjerna izraženost BCL-2 proteina povezana s povećanom invazijom i migracijom tumorskih stanica u gliomu, raku pluća i raku dojke. (26)

Grupa autora dokazala je da osim reguliranja apoptoze i kemorezistencije, BCL-2 modulira migraciju, invaziju, autofagiju i angiogenezu u tumorima, (27,28,29) regulira izraženost mikro RNA, aktivnost nekih transkripcijskih faktora, te je uključen u očuvanje homeostaze mitohondrijske mRNA. Dokazano je i da je BCL-2 izraženost povezana s progresijom raka, uključujući i metastaze jetre u kolorektalnom karcinomu; (30) kao i progresiju iz preinvazivnih u invazivni rak u uzorcima raka pluća (31) a dokazana je i povezanost prekomjerne izraženosti BCL-2 proteina u raku dojke te je istraživana njegova povezanost s limfovaskularnom invazijom kao i dugoročnom prognozom u toj bolesti. (32)

## **2. Cilj završnog rada**

Unatrag 30 godina znanstvenici se bave istraživanjem apoptoze. Provedena su brojna istraživanja i objavljeno je mnogo znanstvenih radova na području molekularnih mehanizama apoptoze. Otkrićem antiapoptotičkih proteina, pokrenuta su klinička istraživanja s ciljem pronalaženja novih molekula koje bi pomogle u liječenju zloćudnih novotvorina, osobito u hematološkim zloćudnim bolestima. Pregledom baze podataka nisam pronašla radove s cjelovitim i iscrpnim prikazom uloge novih molekula u liječenju zloćudnih novotvorina dojke i jajnika. Stoga je cilj ovog završnog rada pretražiti trenutno dostupne informacije o istraživanju lijekova – blokatora proteina „B staničnog limfoma 2, *BCL-2* u liječenju zloćudnih novotvorina dojke i jajnika.

### **2.1. Specifični ciljevi rada:**

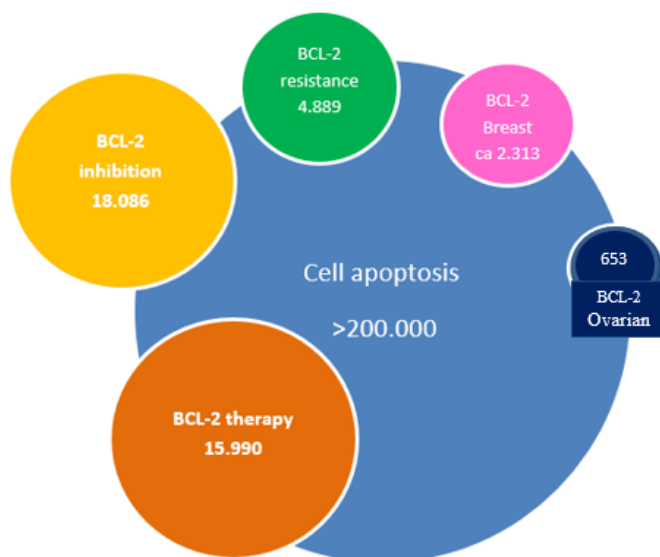
1. Prikazati mehanizam i ulogu apoptoze.
2. Prikazati mehanizam djelovanja antiapoptotičkih proteina s posebnim naglaskom na protein B staničnog limfoma-2. (*BCL-2*)
3. Prikazati epidemiologiju zloćudnih novotvorina dojke i jajnika.
4. Prikazati trenutno dostupne podatke o novim lijekovima (inhibitorima antiapoptotičkih proteina) u području zloćudnih novotvorina dojke i jajnika.

### 3. Materijali i metode

Pretražena je stručna literatura s podacima o istraživanju novih molekula u liječenju zloćudnih novotvorina dojke i jajnika. Pretraživanje je provedeno pomoću baze podataka *PubMed* u periodu od prosinca 2020. do lipnja 2021.

Za analizu sam odabrala pregledne članke, originalne radove, randomizirane studije s dostupnim cjelovitim tekstovima na engleskom jeziku a pretraživanje literature sam ograničila na razdoblje u posljednjih 10 godina (prosinac 2010. – lipanj 2021.) koje sam ga naknadno proširila starijim radovima obzirom da imaju veliki značaj u istraživanju ovog područja. U pretraživanju baze podataka koristila sam ključne riječi: *Cell apoptosis*, *BCL-2 inhibition*, *BCL-2 therapy*, *BCL-2 resistance*, *BCL-2 breast cancer*, *BCL-2 ovarian cancer*.

Najviše je objavljenih radova općenito iz područja apoptoze, više od 200.000. Daljnjim pretraživanjima pokazalo se da se najveći broj radova iz ključnih riječi *BCL-2 inhibition* i *BCL-2 therapy* (Slika 6), međutim oni se odnose na hematološke zloćudne bolesti, dok je na temu *BCL-2 ovarian* i *BCL-2 breast cancer* bilo puno manje radova. Zanimljivo je da na temu kliničkih ispitivanja konkretnih lijekova koji djeluju na BCL-2 protein u raku dojke i jajnika iznimno malo i o tome ću detaljnije pisati u poglavlju Rezultati. Od velikog broja objavljenih studija odabrala sam za početak njih desetak te ih naknadno proširila na ukupno 58 prema kriteriju važnosti časopisa.



Slika 7. Prikazan je broj radova prema ključnim riječima tijekom pretraživanja baze *PubMed*

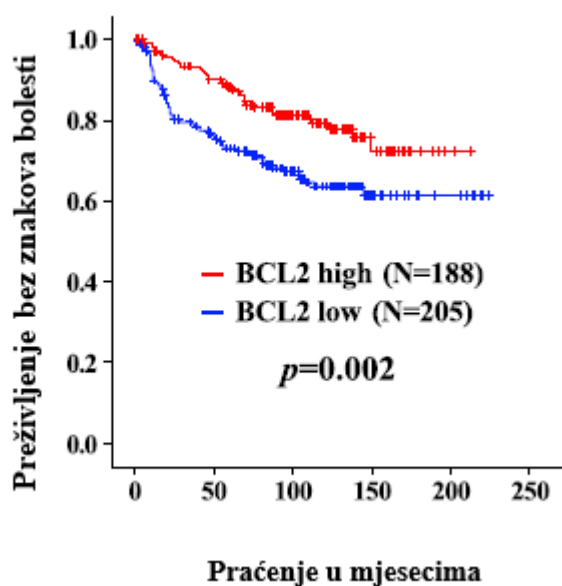
## 4. Rezultati

### 4.1. Zloćudne novotvorine dojke – rak dojke

Zloćudne novotvorine dojke ostaju glavni zdravstveni problem u žena, usprkos velikim znanstvenim i kliničkim dostignućima unutar posljednjih 30 godina. One obuhvaćaju oko 25% svih oblika zloćudnih novotvorina na svijetu. Značajno su zastupljene u uzrocima smrti (15%) u svim zloćudnim novotvorinama u žena. (26) U svijetu je metastatski oblik jedan od najviše prijetjećih oblika zloćudnih novotvorina dojke u žena (33) sa stopom smrtnosti od >400,000 svake godine. (26) Brojni su molekularni mehanizmi povezani s migracijom i invazijom stanica zloćudnih novotvorina dojke već poznati, no pojam metastaziranja je kompleksan i da bi se detaljno razumio njegov mehanizam, potrebna su dublja istraživanja. BCL-2 izraženost je dokazano povezana s raznim vrstama zloćudnih novotvorina, uključujući zloćudne novotvorine dojke. U metaanalizi provedenoj 2010. godine na 11 212 pacijentica, 73% imalo je pozitivitet na protein BCL-2. (34) Zloćudne novotvorine dojke dijele se na osnovi proteina (receptora na površini tumorskih stanica) i to prema pozitivitetu tih receptora na hormone estrogen (ER) i progesteron (PR) te na osnovu pozitiviteta na ljudski epidermalni raktor rasta 2 (HER2). Osim navedenog, dijele se i prema stadiju, tj proširenost bolesti (*rani i uznapredovali*) te prema mjestu nastanka na *duktalne i lobularne*. Dijelimo ih i prema nastanku, na *primarne i sekundarne*.

Neoadjuvantna i/ili adjuvantna sistemska terapija raka dojke se koristi u velikom opsegu u liječenju zloćudnih novotvorina dojke. Pa ipak, ne može se sa sigurnošću predvidjeti pacijentičin odgovor, kao niti postotak onih kod kojih će doći do progresije ili koje će postati refraktorne na liječenje. Ključno je biti u mogućnosti predvidjeti kako će pacijentice odgovoriti na terapiju i koliki je rizik od povratka bolesti te na temelju toga planirati najbolju terapijsku opciju za svaku individualnu bolesnicu. Brojni biomarkeri s potencijalnom prediktivnom vrijednosti su istraživani u raku dojke, te će neki od njih zasigurno imati ulogu kod izbora liječenja. Standardni citotoksični kemoterapeutici djeluju ciljano na DNA i mikrotubule no klinički odgovor na ove lijekove odvija se i pod utjecajem mitohondrijskog apoptotičkog puta. (35) Stoga bi djelovanje na mitohondrijski apoptotički put moglo poboljšati učinkovitost citotoksičnih lijekova. Ranije je spomenut intrinzični - mitohondrijski apoptotički put koji je kontroliran pro i anti-apoptotičkim članovima obitelji BCL-2 proteina.

U slučaju kada pro-apoptotički članovi obitelji BCL-2 prevladaju anti-apoptotičke članove, kreće proces apoptoze i stanica umire. Kod stanica raka je povećana izraženost anti-apoptotičkih proteina te stanica postaje rezistentna na fiziološku apoptozu ali istovremeno i inhibira učinak citotoksičnih lijekova. (35) Brojni su radovi na temu BCL-2 izraženosti i raka dojke, od kojih ću neke opisati u nastavku. U raku dojke, čini se da postoji poveznica između visoke razine BCL-2 izraženosti i lošijeg kliničkog ishoda. Analiza uzoraka pacijenata pokazala je da je izraženost BCL-2 u stanicama raka bila povezana s jetrenim metastazama u raku dojke. Prekomjerna izraženost BCL-XL proteina (člana obitelji BCL-2 proteina) potiče invaziju i metastaziranje (u limfne čvorove ili distalne metastaze) u pacijentica s rakom dojke. (26) Ova je činjenica usmjerila neka istraživanja u ulogu BCL-2 u proces invazije i migracije u raku dojke. U kineskoj studiji, čiji su rezultati objavljeni 2018. g. pokazano je da prekomjerna izraženost antiapoptotičkog proteina BCL-2 potiče metastaziranje *in vivo*, povećavajući migraciju jedne stanične linije u raku dojke tzv. *Bcap37*. Radi se o ER- negativnoj, HER-2 pozitivnoj staničnoj liniji u raku dojke. Iako su se neka ispitivanja pokazala proturječnim, zadnje istraživanje Yanga i suradnika (35) pokazalo je da je BCL-2 izraženost dobar prediktivni čimbenik na osjetljivost na terapiju kod oboljelih od raka dojke. Veći broj kliničkih studija istraživao je prognostički učinak BCL-2 na preživljenje u tumorima dojke. Neke su studije pokazale da postoji poveznica između izraženosti BCL-2 i preživljenja, (32) a u radu hrvatskih autora, spominje se da je BCL-2 izraženost negativan prognostički čimbenik u trostruko negativnom raku dojke i značajan marker agresivnosti tumora. (36) Visoka izraženost BCL-2 pokazala je i višu stopu DFS (*Disease Free Survival*) u usporedbi s pacijenticama koje su imale nižu izraženost BCL-2, osobito u odnosu na povrat bolesti. BCL-2 izraženost je u ovome istraživanju neovisan povoljan prognostički čimbenik u smislu DFS, pokazano na slici 8. (37)



Slika 8. Preživljenje bez znakova bolesti (DFS) u odnosu na BCL-2 status (37)

No, ovaj se nalaz mora smjestiti i u kontekst ostalih karakteristika malignih zloćudnih novotvorina dojke, te kad se uzmu u obzir hormonski status, HER 2 status, vrijednosti se unutar podskupina u ovoj studiji razlikuju, te je u ovoj studiji Hwanga i suradnika, utjecaj BCL-2 bio različit među podtipovima raka dojke. (37) I većina ranijih studija pokazala je povoljan prognostički učinak BCL-2 izraženosti. Callagy i suradnici napravili su meta analizu 18 studija, u kojoj je bilo uključeno 5892 bolesnica s rakom dojke i pokazali da je BCL2 neovisni prognostički čimbenik. (38) Dawson i suradnici analizirali su 5 studija (ukupno 11.212 uzoraka raka dojke) i izvijestili da je BCL-2 povoljan prognostički marker neovisno o molekularnom podtipu ili adjuvantnoj terapiji koja je prethodno primljena. (34) Skupina hrvatskih onkologa je dugogodišnjim praćenjem pacijentica (17,5 g) s dokazanim BCL-2 pozitivitetom i TP53 mutacijom, dokazala nepovoljan prognostički učinak u toj skupini. (39) Većina studija pokazala je povoljne prognostičke učinke BCL-2 a u nekima se podaci razlikuju za određene podtipove raka dojke. Prognostički utjecaj BCL-2 izraženosti može biti različit među raznim podtipovima raka dojke. Hwang i suradnici su pokazali svoje prve spoznaje o prognostičkom značaju BCL-2 skupine proteina u zloćudnim novotvorinama dojke u ranije spomenutoj studiji objavljenoj 2017. g (37), a zatim te spoznate dodatno potvrdili, da je izraženost BCL-2 snažan prognostički čimbenik kod HRc(+)/HER2(-) podtipa, dok BCL-2 izraženost ima malu značajnost kod HRc(+)/HER2(+) podtipova a kod podtipova HRc(-)/HER2(+) i HRc(-)/HER2(-) nema utjecaj. (40) Dawson i suradnici su izvijestili da je BCL-2 snažan povoljan prognostički čimbenik neovisno o ER/HER2 statusu. (34) Još jedna studija analizirala je podatke iz 2399



uzoraka bolesnica s rakom dojke. U toj studiji pokazali su da je BCL-2 izraženost neovisan povoljan prognostički čimbenik samo u podtipovima HRc(+)/HER2(-) ali ne u ostalim podtipovima. (41) Mehanizam kojim bi BCL-2 izraženost mogla izazvati povoljan učinak u raku dojke je nije poznat do kraja, no moguća poveznica BCL-2 izraženosti i poboljšanog kliničkog ishoda u nekim subtipovima (kao npr ER+ tumori dojke) bi mogla proizaći iz činjenice da bi BCL-2 protein mogao biti surogat biomarker estrogen signalnog puta u Luminal A tumorima kod kojeg je povećan odgovor na endokrinu terapiju. U takvom bi odnosu, učinkovita endokrina terapija mogla smanjiti BCL-2 izraženost te poboljšala kliničke ishode tih bolesnica. (42) Te su se spoznaje pokušale potvrditi u nekoliko studija, te je u prospektivnoj Korejskoj studiji iz 2016, analizirano 1356 uzoraka novodijagnosticirane zloćudne novotvorine dojke u periodu od 2006. – 2011. godine. Uzorci su podijeljeni u 5 skupina, prema 13. St Gallen Internacionalnom konsenzusu (luminal A, luminal B – HER2 neg, luminal B- HER2 poz, HER2 prekomjenra ekspresija i Trostruko negativni). Analizirani su klinički ishodi u odnosu na BCL-2 izraženost (kao npr. preživljenje bez progresije bolesti). Pokazano je da je BCL-2 izraženost dokazana u 605 uzoraka (53.8%), te da je povezana s mlađom dobi, HR + statusom, HER2 negativnim statusom, luminalnim oblikom A i nižom stopom povrata bolesti te statističkim značajnim 5-godišnjim preživljenjem, dok u ostalim skupinama (podtipovima) BCL-2 izraženost nije pokazala povezanost s boljim kliničkim ishodima. (43)

Kad govorimo o objavljenim rezultatima u području BCL-2 inhibicije i zloćudnih novotvorina dojke, velika većina radova odnosi se upravo na epidemiološke i prognostičke podatke, poneka spominje i potencijalno prediktivni učinak, no ne navode lijekove. U tom smislu, obzirom da nisam pronašla objavljene studije u ovom području u bazi PubMed, poslužila sam se bazom kliničkih studija, <https://clinicaltrials.gov/> u kojoj sam pronašla slijedeće: navedeno je 15 kliničkih studija, od kojih njih 13 navode termin BCL-2 protein unutar primarnih ili sekundarnih kliničkih ishoda studije a samo tri navode lijek u odnosu na BCL-2 pozitivitet i to:

**1) Palbociclib, letrozole & venetoclax in ER and BCL-2 Positive Breast Cancer**

(PALVEN STUDIJA), broj studije u bazi: NCT03900884

Radi se o studiji koja je u tijeku, objavljeni su samo rezultati faze 1b te je najavljen nastavak studije (44); trenutno je još uvijek u tijeku uključivanje bolesnica za studiju faze 3.

Primarno prikupljanje podataka predviđeno je za studeni 2022 a završno u ožujku 2023.

**2) Studija faze 2 koja uspoređuje učinkovitost lijekova venetoclax + fulvestrant u odnosu na fulvestrant u žena s Estrogen Receptor-Pozitivnim a HER2-negativnim**

## **lokalno uznapredovalim ili metastatskim rakom dojke koje su doživjele povrat bolesti ili progresiju tijekom ili nakon terapije CDK 4/6 inhibitorom (VERONICA)**

Broj studije: NCT03584009. Preliminarni podaci su predani za publikaciju i u tijeku je recenzija.

### **3) Studija koja proučava učinak lijeka tibolone na tkivo zloćudnih novotvorina dojke u postmenopauznih žena (Studija 32971)(P06469) (STEM) (45)**

Ova je studija završila s prikupljanjem podataka, te je do sada predstavljena kao kongresno priopćenje u kojem je izneseno da BCL-2 nema prediktivni učinak u ovih pacijentica.

Osim navedenih studija, rađeni su manji eksperimenti na kulturama stanica pojedinih oblika zloćudnih novotvorina dojke, od kojih mi je bila zanimljiva publikacija Hwanga i sur iz 2018 koji su na istraživali trostruko negativni rak dojke te su objavili da je BCL-2 protein u tom obliku tumora pokazao izražen pozitivitet u 40% . Zatim su radili pokuse s kombiniranom terapijom docetaxela i anti BCL-2 lijeka ABT-737 na toj podskupini i pokazali sinergistički učinak tih lijekova.(46)

## **4.2. Zloćudne novotvorine jajnika - rak jajnika**

Prema izvješću Europske stručne organizacije internističkih onkologa (ESMO), zloćudne novotvorine jajnika su na petom mjestu po učestalosti u žena te na četvrtom mjestu po uzroku smrtnosti. U Europi se godišnje otkrije preko 65 000 novih oboljelih a umre preko 42 000 žena od ove maligne bolesti. (47) Rezistencija na kemoterapeutike na bazi platine ostaje najveća prepreka kliničarima u liječenju raka jajnika. Iako u 70% slučajeva raka jajnika, oboljele imaju učinkovit odgovor na prvu primjenu kemoterapije na bazi platine, većina (80%) će doživjeti relaps unutar 6 mjeseci te se u tom slučaju govori o “platina rezistentnom tumoru” koji je jedan od najvažnijih razloga za visoku stopu smrtnosti bolesnica s rakom jajnika. Stoga je kemorezistencija postala vodeći problem zbog kojeg se potiču istraživanja novih učinkovitijih molekula, kao npr PARP inhibitori (*Poly ADP ribose polymer*) koji inhibiraju DNA popravak i potiču apoptozu tumorskih stanica. (5)

Točan mehanizam rezistencije na platinu još uvijek nije sasvim razjašnjen. Lijekovi na bazi platine aktiviraju nekoliko signalnih puteva kao što je npr. p53 put koji potiče oštećenje DNA. Vrlo bitan cilj signalnog puta p53 su upravo ranije spomenuti *BH3 – jedini proteini*. Tumorske

stanice neutraliziraju proapoptotički utjecaj tih lijekova s njihovom visokom ekspresijom BCL-2 antiapoptotičkih proteina. Zloćudne novotvorine jajnika pokazuju povećanu izraženost članova obitelji BCL-2 proteina. (5) Stoga bi bilo iznimno bitno za kliničku praksu pronaći lijek koji izravno cilja na BCL-2 antiapoptotičke proteine.

Brojne epidemiološke studije pokrenute su s ciljem ispitivanja učestalosti BCL-2 u bolesnica s rakom jajnika. Tako je u studiji Andersona iz 2009. godine, (48) ispitivana razina BCL-2 proteina u urinu u 3 skupine žena, od kojih je u prvoj skupini bilo 77 zdravih žena, zatim u drugoj skupini je bilo 161 žena s benignim ginekološkim bolestima te treća skupina od 150 žena s rakom jajnika od kojih su 13 njih imale rani a 137 kasni stadij bolesti. Osim razine BCL-2, mjerena je i razina CA125. Dokazana je veća razina BCL-2 proteina u urinu u pacijentica s rakom jajnika, neovisno o tumorskom stadiju, stupnju, histologiji, i uz to je izraženost bila srazmjerno povezana i s razinom CA125. Ovi podaci imaju prognostičku i dijagnostičku značajnost te su opravdane daljnje studije BCL-2 iz urina kao biomarkera za rak jajnika.

Prema dosada objavljenim podacima, BCL-2 proteini trebali bi imati ulogu u produljenju preživljenja tumorskih stanica, pa tako i u raku jajnika. U početku su istraživanja BCL-2 uloge u raku jajnika bila proturječna. U studiji iz 2000. (49) u analizi 12 uzoraka raka jajnika koncentracija BCL-2 bila je vrlo raznolika u raznim cisplatin-rezistentnim tumorskim linijama; čak je u nekim uzorcima povezanost BCL-2 izraženosti i rezistencije bila negativna. Ranija studija iz 2018. dokazala je uzročnu povezanost povećane BCL-2 izraženosti u metastazama i postoperativnom rezistentnom tkivu te je bila povezana isto tako i sa stadijem tumora. (50) Ono što je isto tako otkriveno je interakcija /omjer unutar BCL-2 obitelji proteina (pro-apoptotički i anti-apoptotički). Npr BAX; proapoptotički čimbenik može stvarati heterodimere s antiapoptotičkim BCL-2 ili homodimere sam sa sobom. Stoga se u samoj pojavi apoptoze govori o sudjelovanju nekoliko molekula unutar navedene obitelji. Primjerice, MCL-1 (anti-apoptotički protein unutar BCL-2 obitelji) ima poluvrijeme života od samo 30 minuta i nestabilan oblik. Dokazano je da povećanje stabilnosti ovog proteina je bitan čimbenik u kemorezistenciji raka jajnika. Stoga je strategija istraživača nove ciljane terapija raka jajnika pronaći molekulu koja bi inaktivirala MCL-2, tj. smanjila mu stabilitet. Isto tako, dokazano je da je MCL-1 reguliran signalima kalcija putem kalmodulinskog puta. Inhibicijom kalcijevih signala u stanicama raka jajnika otklonila bi se MCL-1 barijera te dodavanjem ciljane terapije (npr. BH3 mimetika molekule ABT 737) povećala bi se osjetljivost stanica raka te potakla apoptoza. (51)

Drugi sličan primjer je kombinacija MCL-1 s antagonistima „MIM I“ koja povećava osjetljivost stanica raka jajnika na paklitaksel. Uz to, npr, za protein BCL-xL je dokazano da posreduje cisplatin rezistenciju u stanicama raka jajnika. (5) Postoje studije koje ukazuju da mikrookoliš u kojem su masne stanice, potiče izraženost BCL-xL a koji utječe na rezistenciju na kemoterapiju u raku jajnika čak i više od samog BCL-2 proteina, jer je upravo BCL-xL najzastupljeniji protein u rezistentnom raku jajnika te se blokadom BCL-xL uspješno aktiviraju kaspaze i time zaobilazi rezistencija na kemoterapiju. (52)

Nekoliko lijekova daje obećavajuće rezultate u prvim fazama kliničkih ispitivanja, te bi u skorjoj budućnosti mogli pridonijeti smanjenu rezistenciju na kemoterapiju u raku jajnika:

- ABT-263 (51, 53,54,55)
- TV-37 (56)
- ABT-737 (56,57,58,59,60)
- AT-101 (61)
- ABT-199 (5, 52, 54)

#### 1) *ABT-263*

Molekula ABT-263 potiče kemosenzitivnost u kliničkim studijama te smanjuje kemorezistenciju u raku jajnika. U 3 linije seroznog raka jajnika visokog stupnja (*HGSOC - high grade serous ovarian cancer*) proučavan je učinak ove molekule u kombinaciji s PARP inhibitorima na način da se mjerila akumulacija oštećene DNA, izraženost obitelji BCL-2 proteina na stanicama tumora. i poticanje apoptoze.

Sama molekula ABT-263 može povećati izraženost BIM proteina a u kombinaciji s PARP inhibitorima može značajno potaknuti apoptozu tumorskih stanica. Ova molekula pokazuje poboljšanu učinkovitost i u kombinaciji s karboplatinom i paklitakselom *in vitro*, te su započete kliničke studije i u ovim kombinacijama.

Također je i kombinacija ABT-263 s MEK inhibitorima pokazala učinkovitost *in vitro* i *in vivo* u raku jajnika. MEK inhibitori su lijekovi koji inhibiraju enzime MEK1 i MEK2 (*mitogen-aktivirajuće protein kinase*). Kod molekule ABT-263 je ograničavajući čimbenik pojavnost trombocitopenije te se u kliničkim studijama pokušava dobiti lijek koji bi imao strukturu BH3-mimetika a bolji sigurnosni profil. (52, 53, 54, 55)

### 1) TW-37

Ova se molekula ispituje se u kombinaciji s molekulom BCL-2 inhibitorom, u monoterapiji ili u kombinaciji sa cisplatinom. Prvi rezultati pokazuju obećavajuće rezultate u inhibiciji rasta tumorskih stanica kao i u poticanju apoptoze. (56)

### 2) ABT-737

Molekula ABT-737 potiče apoptozu u cisplatin rezistentnom raku jajnika intenzivnije nego u cisplatin-osjetljivom raku jajnika. (56) Vezujući se na BCL-2 protein, potiče oslobađanje BAX/BAK, koji promoviraju apoptozu tumorskih stanica dok s druge strane mijenja rezistenciju stanica raka jajnika na cisplatin na način da potiče prijenos kalcija iz endoplazmatskog retikuluma u mitohondrij i citosol što rezultira pojačanom apoptozom. Kombinacijom lijekova karboplatine i/ili paclitaksela i ABT 737, značajno se pojačava antitumorska aktivnost i inhibira stanični rast u kemorezistentnom raku jajnika. (57) U trojnoj kombinaciji, ABT – 737 smanjuje antagonizam između karboplatine i paklitaksela. Isto tako, ova je molekula pokazala antitumorski učinak u visokorezistentnom raku jajnika na način da modulira metabolizam glukoze. (59) Osim toga, ova je molekula korištena kod pacijentica koje su razvile kemorezistentne sferoide u ascitesu, te je dokazan stagnacija rasta tumorskih nakupina u ascitesu kao povećana osjetljivost na cisplatinu kod peritonealnih metastaza. (60)

### 3) AT 101

Ova molekula aktivira BAX protein iz obitelji BCL-2 proteina i potiče apoptozu. (61)

Osim navedenog, u terapiji karcinoma jajnika, kada se kombinira molekula AT101 s cisplatinom, smanjuje se izraženost nekih antiapoptotičkih proteina, npr. BCL-2 i povećava izraženost proapoptotičkih proteina što ukazuje na veliki potencijal u prevladavanju kemorezistencije u ovim tumorima.

### 4) ABT-199

Visoko selektivan BCL-2 inhibitor, ABT-199,(5) prvotno je odobren u liječenju kronične limfatičke leukemije te akutne mijeloične leukemije. Ova molekula ima povoljan sigurnosni profil a pokazuje djelotvornost u mnogim vrstama raka, uključujući i rak jajnika (54)

## 5. Zaključak:

Poremećaj apoptoze je jedan od ključnih patofizioloških obilježja zloćudnih novotvorina. BCL-2 skupina proteina u svojoj složenoj strukturi i međusobnim interakcijama čine bitan element u reguliranju apoptoze. Brojna istraživanja su rađena upravo u ovom području u svrhu iznalaženja mehanizama interakcija unutar BCL-2 obitelji, zatim učinka lijekova koji ih blokiraju te međudjelovanje BCL-2 inhibitora i standardne kemoterapije. BCL-2 protein je poznat kao anti-apoptotički čimbenik u ljudskim tumorima. Članovi obitelji BCL-2 imaju dvojnju funkciju – onkogenu i tumor-supresivnu. (1) Učinak BCL-2 puta je usko povezan s rezistencijom na kemoterapiju, endokrinu terapiju, anti-HER-2 terapiju i terapiju zračenjem u tumorima dojke i jajnika. (5)

### 5.1. Rak dojke

Klinički, BCL-2 izraženost je povezana s povoljnim kliničko patološkim obilježjem kao npr mala tumorska masa, negativni čvorovi, niski histološki stadij. (34) Prognostička uloga izraženosti BCL-2 proteina u raku dojke je ovisna o podtipu raka. BCL-2 izraženost povezana je s HR-pozitivnim i HER-2-negativnim podtipovima. (40) Povoljna kliničko patološka svojstva i snažna povezanost s ER/PR statusom mogla bi djelomično objasniti bolju prognozu grupe s visokom izraženosti BCL-2. Bolesnice koje imaju dokazani pozitivitet na BCL-2 proteine i trostruko negativne tumore dojke bi mogle postići potpuni klinički odgovor nakon neoadjuvantne kemoterapije što je povezano s poboljšanim preživljenjem. (63) Naravno da je potrebno još provesti puno studija i usporednih analiza koje bi procijenile punu korist izraženosti ovog proteina kao prognostičkog biljega u raku dojke. Iako su se neka ispitivanja pokazala proturječnim, većina istraživanja pokazala su da je negativna BCL-2 izraženost dobar prognostički čimbenik kod oboljelih od raka dojke. S druge strane, dokazano je da BCL-2 izraženost može biti pozitivan prediktivan čimbenik za kemoterapiju u raku dojke. Ovaj je nalaz značajan jer bi pronalaženje ovakvog neovisnog prediktivnog faktora moglo odrediti visoko rizične pacijentice te za njih dizajnirati individualiziranu ciljanu terapiju. U tijeku su ispitivanja dva lijeka koja izravno ciljaju na BCL-2; i to ABT-263 i ABT-199.

## 5.2. Rak jajnika

Visoka stopa kemorezistencije u raku jajnika čini ga najsmrtonosnijom zloćudnom novotvorinom u žena. Brojna su istraživanja provedena i provode se kako bi se otkrio detaljan mehanizam kemorezistencije. Članovi BCL-2 obitelji proteina pokazuju prekomjernu izraženost koja je povezana s kemorezistencijom. Dokazano je da bi regulacija (anti)apoptotičkih molekularnih mehanizama bila korisna u ovim zloćudnim novotvorinama te su trenutno brojni lijekovi (npr. ABT 737, ABT 263, AT 101, ABT 199 i TW 37) u početnim fazama kliničkih ispitivanja što će zasigurno u budućnosti pomoći iznalaženju individualizirane terapije u ovoj bolesti.

## 6. Sažetak

Apoptoza je jedan od ključnih procesa uključenih u staničnu smrt te njena regulacija u tumorskim stanicama otvara mogućnosti u terapiji zloćudnih novotvorina. U regulaciji apoptotičkog puta jednu od ključnih uloga ima B stanični limfom – 2 protein ( B Cell Lymphoma protein; BCL-2 protein). Prekomjerna izraženost ovog proteina pronađena je u raznim vrstama zloćudnih novotvorina, uključujući leukemije, limfome, zloćudne novotvorine dojke, prostate, kolorektuma, jajnika itd. Stoga je BCL-2 protein jedan od ciljanih proteina u brojnim globalnim istraživanjima. Unatrag tridesetak godina otkrivena je struktura cijele obitelji BCL-2 proteina kao i njihova podjela na dvije skupine (antiapoptotičke, i proapoptotičke). Inhibicijom antiapoptotičke skupine BCL-2 proteina te posljedičnom apoptozom dolazi do aktivacije stanične smrti. U ovome radu sam predočila dosadašnje spoznaje o epidemiologiji, prognostičkim i prediktivnim čimbenicima te nove molekule s kojima se rade klinička ispitivanja u liječenju zloćudnih novotvorina dojke i jajnika inhibicijom BCL-2 proteina.

U zloćudnim novotvorinama dojke, dio istraživača objavio je da je BCL-2 izraženost neovisan povoljan prognostički čimbenik kad govorimo o ukupnom preživljenju, no većina studija govori da ipak postoji razlika ovisno o podtipu pa je tako u podtipovima HR(+)/HER2(–) BCL-2 izraženost pozitivan prognostički čimbenik u odnosu na ostale podtipove. (37) Međutim, mehanizam kojim bi BCL-2 izraženost mogla izazvati povoljan učinak u raku dojke je nepoznat. Kad govorimo o prediktivnim čimbenicima, dokazano je da BCL-2 izraženost može biti pozitivan prediktivan čimbenik za kemoterapiju u raku dojke. Ovaj je nalaz značajan jer bi pronalaženje ovakvog neovisnog prediktivnog faktora moglo odrediti visoko rizične pacijentice te za njih dizajnirati individualiziranu ciljanu terapiju.

U tijeku su ispitivanja dva lijeka koja izravno ciljaju na BCL-2; i to ABT-263 i ABT-199. Pacijentice s BCL-2 negativnim tumorima su pak nakon neoadjuvantne kemoterapije imale veću stopu potpunih odgovora tako da se i u ovoj podskupini može razmišljati o daljnjim istraživanjima. Kada govorimo o zloćudnim novotvorinama jajnika, rezistencija na kemoterapeutike na bazi platine ostaje najveća prepreka kliničarima u liječenju raka jajnika. Točan mehanizam rezistencije na platinu još uvijek nije sasvim razjašnjen. Ako govorimo o utjecaju BCL-2 na kemorezistenciju, povišena koncentracija BCL-2 proteina je povezana s rezistencijom na neke lijekove, kao npr. rezistencija na cisplatin u raku jajnika.



## 7. Summary:

Apoptosis is one of the key processes involved in the cell's death, and its regulation in tumour cells brings potentially new options in cancer treatment. BCL-2 protein plays one of the critical roles in apoptotic regulation. Over-expression of this protein was found in different cancer types, including leukaemia, lymphomas, breast cancers, prostate cancers, colorectal and ovarian cancers. Therefore BCL-2 became one of the most targeted proteins in numerous global trials. In the last thirty years the whole BCL-2 family structure has been investigated and divided into two groups, the antiapoptotic and proapoptotic family members.

By inhibiting the antiapoptotic group of BCL-2 proteins, the apoptotic activation leads to the cell's death. In this paper, I have presented the current knowledge on epidemiology, prognostic and predictive factors and the new molecules that have been used in clinical trials in the treatment of breast and ovarian cancers by the inhibition of BCL-2 protein.

In malignant breast neoplasms, some researchers have reported that BCL-2 expression is an independent favorable prognostic factor when it comes to overall survival, but most studies say that there is a difference depending on the subtype of the neoplasm, as is the case, for example, in the HRc (+) / HER2 (-) subtypes, BCL-2 expression is a positive prognostic factor relative to other subtypes.

However, the mechanism by which BCL-2 expression could produce a beneficial effect in breast cancer is unknown. When it comes to predictive factors, BCL-2 expression has been shown to be a positive predictive factor for chemotherapy in breast cancer. This discovery is significant, because finding such an independent predictive factor could identify high-risk patients and help design an individualized targeted therapy for them. Two drugs that directly target BCL-2 are ongoing: both ABT-263 and ABT-199. Patients with BCL-2 negative tumors, on the other hand, had a higher rate of complete remission after neoadjuvant chemotherapy, so that further research can be considered in this subgroup.

When it comes to ovarian malignancies, resistance to platinum-based chemotherapeutics remains the biggest hurdle for clinicians in treating ovarian cancer. The exact mechanism of platinum resistance has not yet been fully elucidated. If we talk about the effect of BCL-2 on chemoresistance, an elevated concentration of BCL-2 protein is associated with resistance to some drugs, such as cisplatin resistance in ovarian cancer.

## 8. Reference

1. Hanahan, D, Weinberg, R.A. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000 Jan 7; 100(1), 57–70.
2. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011 Mar 4;144(5):646-74.
3. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 1972 Aug;26(4):239-57.
4. Boumela I, Assou S, Aouacheria A, Haouzi D, Dechaud H, De Vos J i sur. Involvement of BCL2 family members in the regulation of human oocyte and early embryo survival and death: gene expression and beyond. *Reproduction*. 2011; May;141(5):549-61.
5. Yuan J, Lan H, Jiang X, Zeng D, Xiao S. Bcl-2 family: Novel insight into individualized therapy for ovarian cancer (Review). *Int J Mol Med*. 2020; Oct;46(4):1255-65.
6. Fernald K, Kurokawa M. Evading apoptosis in cancer. *Trends Cell Biol*. 2013; Dec; 23(12):620-33..
7. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. *Science*. 1984 Nov 30; 226(4678): 1097–9.
8. Bakhshi A, Jensen JP, Goldman P, Wright JJ, McBride OW, Epstein AL i sur. Cloning the chromosomal breakpoint of t(14;18) human lymphomas: clustering around JH on chromosome 14 and near a transcriptional unit on 18. *Cell*. 1985 Jul; 41(3), 899–906.
9. Campbell KJ, Tait SWG. Targeting BCL-2 regulated apoptosis in cancer. *Open Biol*. 2018 May; 8(5): 180002.
10. Suvarna V, Singh V, Murahari M. Current overview on the clinical update of Bcl-2 anti-apoptotic inhibitors for cancer therapy *European Journal of Pharmacology*. 2019 Nov 5; 862:172655.
11. Hata, AN.; Engelman, JA.; Faber, AC. The BCL2 Family: Key Mediators of the Apoptotic Response to Targeted Anticancer Therapeutics. *Cancer Discov*. 2015 May; 5(5), 475–87.
12. Gabellini C, Trisciuglio D, Del Bufalo D. Non-canonical roles of Bcl-2 and Bcl-xL proteins: Relevance of BH4 domain. *Carcinogenesis*. 2017 Jun 1; 38(6): 579–87.
13. Adams JM, Cory S. The BCL-2 arbiters of apoptosis and their growing role as cancer targets. *Cell Death Differ*. 2018 Jan; 25, 27–36.
14. Cassier PA, Castets M, Belhabri A, Vey, N. Targeting apoptosis in acute myeloid leukaemia. *Br. J. Cancer* 2017 Oct 10; 117(8), 1089–98.

15. Sakamoto KM, Grant S, Saleiro D, Crispino JD, Hijiya N, Giles F i sur. Targeting novel signaling pathways for resistant acute myeloid leukemia. *Mol Genet Metab.* 2015 March; 114(3): 397–402.
16. Yang XK, Zheng F, Chen JH, Gao QL, Lu YP, Wang SX i sur. Relationship between expression of apoptosis-associated proteins and caspase-3 activity in cisplatin-resistant human ovarian cancer cell line. *Ai Zheng* 2002 Dec 21, 1288–91.
17. Geng M, Wang L, Li P. Correlation between chemosensitivity to anticancer drugs and Bcl-2 expression in gastric cancer. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2013 Oct 15; 6(11), 2554–9.
18. Zhao Y, Zhang CL, Zeng BF, Wu XS, Gao TT, Oda, Y. Enhanced chemosensitivity of drug-resistant osteosarcoma cells by lentivirus-mediated Bcl-2 silencing. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009 Dec 18; 390(3):, 642–7.
19. Kim DW, Kim KO, Shin MJ, Hee Ha J, Wook Seo S, Yanf J i sur. siRNA-based targeting of antiapoptotic genes can reverse chemoresistance in P-glycoprotein expressing chondrosarcoma cells. *Mol. Cancer.* 2009; 8-28.
20. Kuwashima Y, Uehara T, Kishi K, K Shiromizu, M Matsuzawa, S Takayama. Immunohistochemical characterization of undifferentiated carcinomas of the ovary. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 1994; 120, 672–77.
21. Monaghan P, Robertson D, Amos TA, Dyer MJ, Mason DY, Greaves MF. Ultrastructural localization of bcl-2 protein. *J. Histochem. Cytochem.* 1993; 40, 1819–25.
22. Pezzella F, Turley H, Kuzu, Tungekar MF, Dunnill Ms, Pierce CB i sur. BCL-2 protein in NSCLC. *NEJM* 1993 Sept; 390, 690-4.
23. Hartman M L, Czyz, M. Anti-apoptotic proteins on guard of melanoma cell survival. *Cancer Lett.* 2013 Jan; 331, 24–34.
24. Mukherjee N, Schwan JV, Fujita M, Norris DA, Shellman YG. Alternative Treatments For Melanoma: Targeting BCL-2 Family Members to De-Bulk and Kill Cancer Stem Cells. *J. Investig. Dermatol;* 2015 Sept, 135(9), 2155–61.
25. Trisciuglio D, Desideri M, Ciuffreda L, Mottolese M, Ribatti D, Vacca Ai sur. Bcl-2 overexpression in melanoma cells increases tumor progression-associated properties and in vivo tumor growth. *Journal of Cellular Physiology.* 2005 Dec;205(3)414-21;
26. Du C, Zhang X, Yao M, Lv K, Wang J, Chen L, i sur. BCL-2 promotes metastasis through the epithelial-to-mesenchymal transition in the BCap37 medullary breast cancer cell line. *Oncol Lett.* 2018;15(6):8991-98.

27. Trisciuglio D, Gabellini C, Desideri M, Ragazzoni Y, De Luca T, Ziparo E i sur. Involvement of BH4 domain of bcl-2 in the regulation of HIF-1-mediated VEGF expression in hypoxic tumor cells. *Cell Death Differ*. 2011 Jun;18(6), 1024–35.
28. Trisciuglio D, De Luca T, Desideri M, Passeri D, Gabellini C, Scarpino S i sur. Removal of the BH4 domain from Bcl-2 protein triggers an autophagic process that impairs tumor growth. *Neoplasia* 2013 Mar; 15(3): 315–27.
29. Gabellini C, De Luca T, Trisciuglio D, Desideri M, Di Martile M, Passeri D i sur. BH4 domain of bcl-2 protein is required for its proangiogenic function under hypoxic condition. *Carcinogenesis* 2013 Nov; 34(11), 2558–67.
30. Oliver L, Cordel S, Barbieux I, LeCabellec MT, Meflah K, Grégoire M, i sur. Resistance to apoptosis is increased during metastatic dissemination of colon cancer. *Clin. Exp. Metastasis* 2002; 19(2), 175–80.
31. Groeger A M, Caputi M, Esposito V, De Luca A, Salat A, Murabito M i sur. A. E. Bcl-2 protein expression correlates with nodal status in non-small cell lung cancer. *Anticancer Res*. 1999 Jan-Feb; 19(1B), 821–4.
32. Neri A, Marrelli D, Roviello F, DeMarco G, Mariani F, DeStefano A i sur. Bcl-2 expression correlates with lymphovascular invasion and long-term prognosis in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2006 Sept;99(1); 77–83.
33. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A: Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018 Nov; 68(6): 394-424.
34. Dawson SJ, Makretsov N, Blows FM, Driver KE, Provenzano E, Le Quesne i sur. BCL2 in breast cancer: a favourable prognostic marker across molecular subtypes and independent of adjuvant therapy received. *Br J Cancer*. 2010 Aug 24;103(5):668-75.
35. Yang D, Chen M, Wang Li, Yang L, Liu Ch, Lu P: Bcl-2 expression predicts sensitivity to chemotherapy in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Exp Clin Cancer Res* 2013 Dec 27; 32(1):105.
36. Ozretic P, Alvir I, Sarcevic B, Vujaskovic Z, Rendic-Miocevic Z, Roguljic A i sur. Apoptosis regulator Bcl-2 is an independent prognostic marker for worse overall survival in triple-negative breast cancer patients. *Int J Biol Markers*. 2018 Jan;33(1):109-15.
37. Hwang KT, Han W, Kim J, Moon HG, Oh S, Song Ys i sur. Prognostic Influence of BCL2 on Molecular Subtypes of Breast Cancer. *J Breast Cancer*. 2017 Mar;20(1):54-64.
38. Callagy G M, Webber M J, Pharoah PD, Caldas C. Meta-analysis confirms BCL2 is an independent prognostic marker in breast cancer. *BMC Cancer* 8. 2008: 153.

39. Sirotković-Skerlev M, Plavetić Dedić N, Sedlić F, Kuna SK, Vrbanec D, Belev B i sur: Prognostic Value of circulating BCL-2 and anti-p53 antibodies in with breast cancer: A long term follow up (17.5 years); *Cancer Biomarkers* 2021; 30(1):95-104
40. Hwang KT, Kim YA, Kim J, Oh HJ, Park JH, Choi IS, i sur. Prognostic influences of BCL1 and BCL2 expression on disease-free survival in breast cancer. *Sci Rep.* 2021 Jun 7; 11(1), 11942.
41. Seong M K, Lee J Y. Byeon J, Sohn YJ, Seol H, Lee JK, i sur. Bcl-2 is a highly significant prognostic marker of hormone-receptor-positive, human epidermal growth factor receptor-2-negative breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 2015 Feb; 150 (1), 141–8.
42. Merino D, Lok S W, Visvader J E i Lindeman G J. Targeting BCL-2 to enhance vulnerability to therapy in estrogen receptor-positive breast cancer. *Oncogene.* 2016 Apr; 35(15); 1877–87.
43. Eom YH, Kim HS, Lee A, Song BJ, Chae BJ. BCL2 as a Subtype-Specific Prognostic Marker for Breast Cancer. *J Breast Cancer.* 2016 Sep;19(3):252-60.
44. Muttiah Ch, Travers, Whittle JR, Dawson BY, Visvader JE, Oakman C i sur. Abstract OT-27-01: PALVEN: A phase 1b study of palbociclib, letrozole and venetoclax in estrogen receptor, BCL2-positive metastatic breast cancer; *Proceedings of the 2020 San Antonio Breast Cancer Virtual Symposium; 2020 Dec 8-11; San Antonio, TX. Philadelphia (PA): AACR Cancer Res* 2021 Feb; 81 (4 Suppl): Abstract nr OT-27-01
45. Ledermann J A, Raja F A, Fotopoulou C, Gonzalez-Martin A, Colombo N, Sessa C. Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up; 2013 Oct; *Ann of Onc* 24 (Suppl 6):24-32
46. Kubista E, , Panellas Gomez JV, Dowsett M, Foidart JM, Pohlodek K, Serreyn R i sur. Effect of tibolone on breast cancer cell proliferation in postmenopausal ER+ patients: results from STEM trial. *Clin Cancer Res.* 2007 Jul 15;13(14);4185-90
47. Hwang E. Hwang S H, Kim J. Park JH, Oh S, Kim YA, i sur. ABT-737 ameliorates docetaxel resistance in triple negative breast cancer cell line. *Ann. Surg. Treat. Res.* 2018 Nov; 95, 240–8.
48. Anderson NS, Bermudez Y, Badgwell D, Chen R, Nicosia S, Bast RC i sur. Urinary levels of Bcl-2 are elevated in ovarian cancer patients. *Gynecol Oncol.* 2009 Jan; 112(1):60-7.
49. Beale PJ, Rogers P, Boxall F, Sharp SY, Kelland LR. BCL-2 family protein expression and platinum drug resistance in ovarian carcinoma. *Br J Cancer.* 2000 Jan; 82(2):436-40.

50. Liang M, Zhao J: Protein expressions of AIB1, p53 and Bcl-2 in epithelial ovarian cancer and their correlations with the clinical pathological features and prognosis. *Eur Rev Med. Pharmacol Sci.* 2018; 22: 5134-9.
51. Shahbandi A, Rao SG, Anderson AY, Frey WD, Olayiwola JO, Ungerleider NA i sur. BH3 mimetics selectively eliminate chemotherapy-induced senescent cells and improve response in *TP53* wild-type breast cancer. *Cell Death Differ.* 2020 Nov; 27(11), 3097–116.
52. Cardenas C, Montagna MK, Pitruzzello M, Lima E, Mor G, Alvero AB: Adipocyte microenvironment promotes Bcl xl expression and confers chemoresistance in ovarian cancer cells. *Apoptosis.* 2017 Apr; 22(4): 558-69.
53. Stamelos VA, Robinson E, Redman CW, Richardson A: Navitoclax augments the activity of carboplatin and paclitaxel combinations in ovarian cancer cells. *Gynecol Oncol.* 2013 Feb; 128:377-82.
54. Yamaguchi R, Lartigue L, Perkins G. Targeting Mcl-1 and other Bcl-2 family member proteins in cancer therapy. *Pharmacol Ther.* 2019 Mar;195:13-20.
55. . Iavarone C, Zervantonakis IK, Selfors LM, Palakurthi S, Liu JF, Drapkin R i sur. Combined MEK and BCL-2/X<sub>L</sub> Inhibition Is Effective in High-Grade Serous Ovarian Cancer Patient-Derived Xenograft Models and BIM Levels Are Predictive of Responsiveness. *Molecular cancer therapeutics.* 2019 Mar; 18 (3): 642-55.
56. Wang H, Zhang Z, Wei X, Dai R: Small-molecule inhibitor of Bcl-2 (TW-37) suppresses growth and enhances cisplatin-induced apoptosis in ovarian cancer cells. *J Ovarian Res.* 8 2015; 3.
57. Yang Y, Li S, Sun Y, Zhang D, Zhao Z, Liu L. Reversing platinum resistance in ovarian cancer multicellular spheroids by targeting Bcl-2. *Onco Targets Ther.* 2019 Jan 29;12:897-906.
58. Oakes SR, Vaillant F, Lim E, Lee L, Breslin K, Feleppa F i sur. Sensitization of BCL-2-expressing breast tumors to chemotherapy by the BH3 mimetic ABT-737. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Feb 21;109(8):2766-71.
59. Xu Y, Gao W, Zhang Y, Wu S, Liu Y, Deng X i sur. ABT 737 reverses cisplatin resistance by targeting glucose metabolism of human ovarian cancer cells. *Int J Oncol.* 2018 Sep;;53(3):1055-68.
60. Jain HV, Meyer-Hermann M. The molecular basis of synergism between carboplatin and ABT-737 therapy targeting ovarian carcinomas. *Cancer Res.* 2011 Feb 1;71(3):705-15.

61. Karaca B, Atmaca H, Bozkurt E, Kisim A, Uzunoglu S, Kaabulut B i sur. Combination of AT-101/cisplatin overcomes chemoresistance by inducing apoptosis and modulating epigenetics in human ovarian cancer cells. *Mol Biol Rep.* 2013 Jun; 40(6) 3925-33.
62. Abdel-Fatah TM , Perry C, Dickinson P Ball G, Moseley P, Madhusudan S,i sur. Bcl2 is an independent prognostic marker of triple negative breast cancer (TNBC) and predicts response to anthracycline combination (ATC) chemotherapy (CT) in adjuvant and neoadjuvant settings. *Ann Oncology.* 2013 Nov; 24(11): 2801-7.
63. Hwang K T, Kim K, Chang JH, Oh S, Kim YA, Lee JY, i sur. BCL2 regulation according to molecular subtype of breast cancer by analysis of the cancer genome atlas database. *Cancer Res.* 2018 Jul; . 50, 658–69.

## 9. Životopis

Ljubica Vukšić, rođena je 1971. u Zagrebu; diplomirala je na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 1996. godine te položila državni ispit 1998. Svoj pripravnički radni staž volontirala je od 1996. – 1997, nakon čega je 1998. započela radom u farmaceutskoj industriji PLIVA na mjestu Medicinskog predstavnika te je uskoro postala Voditelj grupe proizvoda za šećernu bolest i bolesti krvožilnog sustava. U svojem je radu uvijek nastojala spojiti trenutne zadaće s liječničkim pozivom te je 2001. godine kao dio tima za uvođenje inovativnih rješenja vodila nekoliko javnozdravstvenih edukativnih projekata za liječnike i pacijente. Sudjelovala je u prvim koracima u procesima digitalizacije farmaceutske industrije unutar kojih su nastali odlični projekti i portali kao npr. portal za kontinuiranu edukaciju pacijenata i liječnika. Nakon širenja PLIVE na srednjeeuropska tržišta, i ulaskom u područje onkologije, 2005. godine prelazi na poziciju Voditelja terapijske skupine Onkologija, gdje upravlja skupinom od 27 onkoloških lijekova; Vodila je postmarketinške studije u području raka dojke kao i istraživanja u području sigurnosnog rukovanja citotoksičnim lijekovima. Nakon PLIVE, karijeru nastavlja u njemačkoj kompaniji MERCK gdje je obavljala različite funkcije od kojih je najvažnija bila Voditelj medicinskog odjela. Kao Medicinski savjetnik za onkologiju, zalagala se za uvođenje specijalizirane dijagnostike oboljelih od raka debelog crijeva koja bi omogućila personalizirano liječenje ove bolesti, i dulje ukupno preživljenje. Godine 2018. pridružila se medicinskom timu u američkoj farmaceutskoj kompaniji AbbVie gdje i danas radi. Započevši kao Medicinski savjetnik za onkologiju i hematologiju za regiju Adriatic, uspješno nastavlja karijeru na poziciji Voditelja medicinskih operacija za regiju Srednjoistočne Europe, zemalja Bliskog Istoka, Rusije i Afrike nakon čega postaje dio globalnog tima kao Voditelj medicinskih operacija za područje onkologije za Interkontinental regiju.