

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Интегрисане академске студије фармације
Г06 – Фармацеутска биотехнологија

ТЕРАПИЈСКИ ХОРМОНИ

9. НЕДЕЉА НАСТАВЕ

Летњи семестар 2022/2023. године

Крагујевац

Хормони

- Према најопширнијој дефиницији хормони су **ендокрине, паракрине и аутокрине регулаторне супстанце** које преносе сигнал за покретање промена на ћелијском нивоу.
 - Према овој дефиницији, сви цитокини се могу сматрати хормонима.
- **Прави ендокрини хормони** су супстанце које се синтетишу и секретују у жлездама, а путем крви доспевају до удаљених циљних ћелија и изазивају одговарајуће промене.
- Већина хормона који се користе у терапији се сврставају у групу ендокриних хормона:
 - инсулин, глукагон, хормон раста, гонадотропини.

Инсулин

- **Инсулин** је полипептидни хормон, кога производе бета ћелије Лангерхансових острваца панкреаса. Има кључну улогу у одржавању концентрације глукозе у крви у физиолошком опсегу, а поред тога значајно утиче на метаболизам протеина и липида и има одређену митогену активност.
- Иако многе ћелије у организму имају рецепторе за инсулин, његова најважнија мета су рецептори на скелетним мишићним влакнима, хепатоцитима и адипоцитима, где антагонизује ефекте глюкагона.
- Најјачи стимулус ослобађања инсулина из панкреаса је постпрандијално повећање нивоа глукозе у крви.

Инсулин

- Најзначајнији метаболички ефекти инсулина могу бити контролисани и глукагоном. Наиме, када се концентрација глукозе у крви смањи, ниво инсулина опада и ефекти глукагона (углавном катаболички) постају све израженији.

Метаболички пут	Циљно ткиво	Ефекат инсулина	Ефекат глукагона
Синтеза гликогена	Јетра	↑	↓
Разградња гликогена	Јетра	↓	↑
Глуconeогенеза	Јетра	↓	↑
Синтеза гликогена	Мишићи	↑	-
Синтеза масних киселина	Масно ткиво	↑	↓
Разградња масних киселина	Масно ткиво	↓	↑

Инсулин

- Услед апсорпције глукозе и других хранљивих материја, инсулин индукује следеће метаболичке одговоре:
 - снижава гликемију тако што стимулише транспорт глукозе, аминокиселина, K^+ јона и других хранљивих материја у ћелије;
 - хранљиве материје претвара у облик погодан за складиштење тако што стимулише синтезу гликогена;
 - стимулише синтезу протеина и ДНК (инсулин као фактор раста);
 - инхибира или помаже у инхибицији катаболичких путева (као што је гликогенолиза).

Инсулин

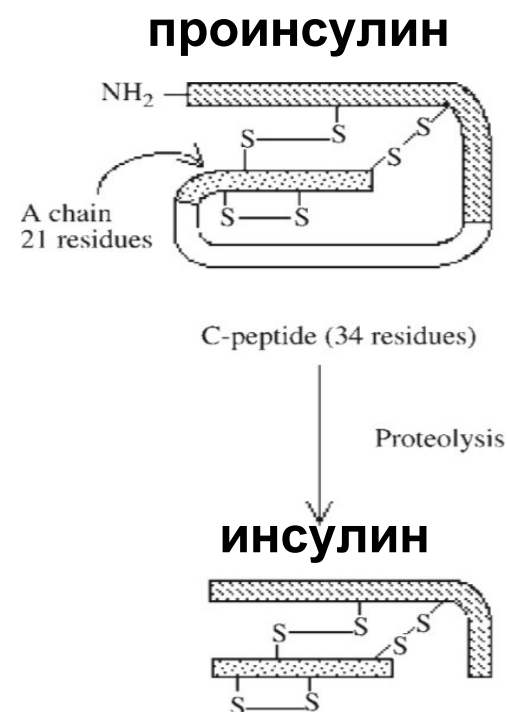
-биосинтеза

1921. год. - идентификован антидијабетесни ефекат

1922. год. - уведен у клиничку праксу

1951. год. – одређена комплетна аминокиселинска секвенца

- Инсулин се синтетише као препроинсулин од 108 АК који на свом N-терминусу садржи сигналну секвенцу од 23 АК. Уклањањем ове сигналне секвенце у ендоплазматском ретикулуму настаје **проинсулин** који обезбеђује одговарајућу конформацију са тачно позиционираним дисулфидним мостовима.



Инсулин

-биосинтеза

- Клатрином обложене секреторне везикуле са проинсулином се затим транспортују у Голџијев апарат и протеолитички обрађују тако да се стварају једнаке количине **зрелог инсулина** и **С-пептида** (везујући пептид од 34 АК).
- Одвајајући се од Голџијевог апарата, губе клатрински омотач и постају необложене секреторне грануле које служе као складишни облик инсулина у β -ћелијама. Инсулин се у секреторним гранулама депонује у облику карактеристичног хексамера цинк-инсулина, који се састоји од шест молекула инсулина стабилизованих са два атома цинка.
- Повећани нивои глукозе у крви или други одговарајући стимулуси узрокују фузију везикула са плазма мембраном, при чему се садржај ослобађа у крв (егзоцитозом).

Инсулин

-структура

- Зрели инсулин се састоји од два полипептидна ланца (А и Б) који су међусобно повезани са две дисулфидне везе.
 - А садржи 21 аминокиселину, Б садржи 30 аминокиселина.
- Инсулини различитих биолошких врста имају минималне разлике у аминокиселинским секвенцама:
 - свињски (5777 Da) се разликује од хуманог (5807 Da) у 1 АК,
 - говеђи (5733 Da) се разликује од хуманог (5807 Da) у 3 АК.
- Међутим, С пептидна секвенца проинсулина може значајно варирати између различитих биолошких врста, па присуство проинсулина у препаратима инсулина анималног порекла може изазвати имунски одговор код људи.

Инсулин

-рецептор

- **Рецептор за инсулин** је тетрамерни интегрални мембрански гликопротеин који има активност тирозин киназе.
- Састоји се од:
 - два екстрацелуларна α ланца и
 - два трансмембранска β ланца међусобно повезаним дисулфидним везама.
- **α ланци** (по 735 АК) се налазе на површини плазма мембране и садрже домен богат цистеином за који се везује инсулин. При везивању инсулина, настаје конформација која омогућава аутофосфорилацију β ланца.

Инсулин

-рецептор

- **β ланци** (по 620 АК) представљају каталитички део рецептора и састоје се од три дела:
 - екстрацелуларног – остварује интеракције са α ланцима;
 - трансмембранског – учвршћује рецептор у ћелијској мембрани и учествује у његовој интернализацији након везивања хормона;
 - интрацелуларног (цитоплазматског).
- Цитоплазматски део β ланца има различите регионе:
 - јукстамембрански - укључен у препознавање/везивање интрацелуларних молекулских супстрата;
 - тирозин киназни - показује активност тирозин киназе након активирања рецептора;
 - С-терминални - највероватније стимулише митогене ефекте инсулина.

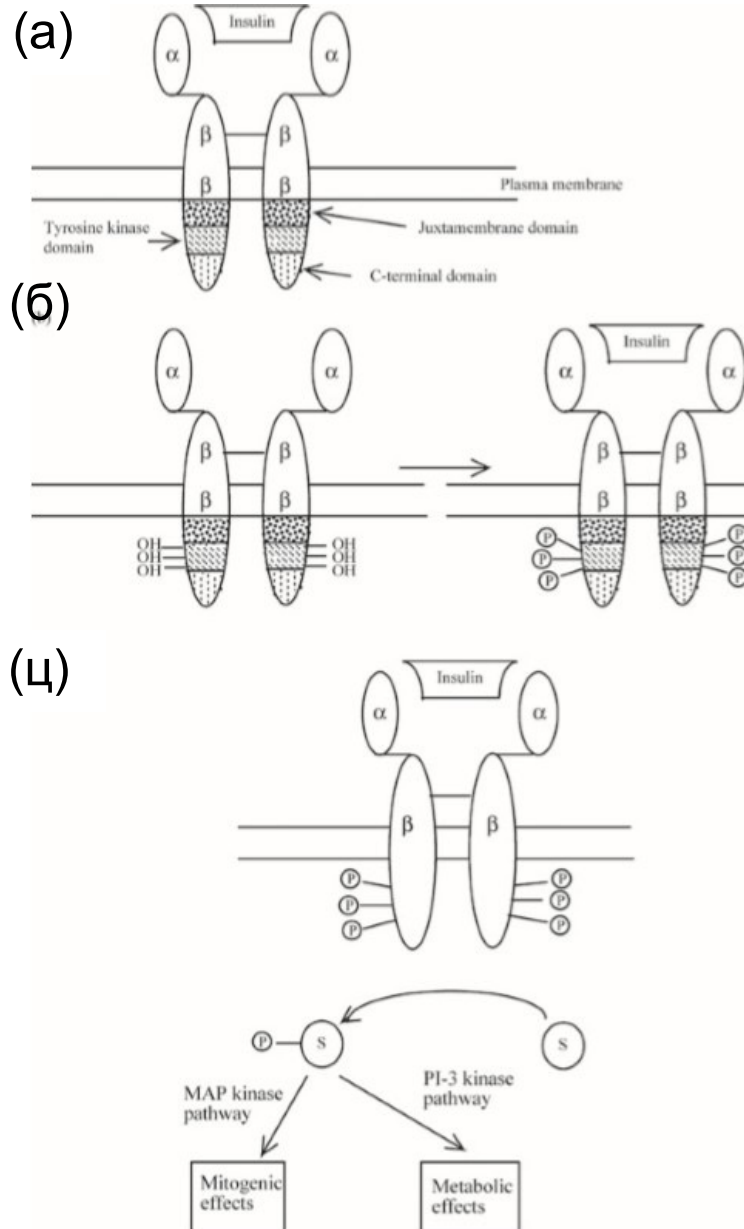
Инсулин

-сигнална трансдукција

- Молекулски механизми одговорни за сигналну трансдукцију инсулина су сложени.
- Везивање инсулина за његов рецептор подстиче аутофосфорилацију три специфична остатка тирозина у региону тирозин киназе изазивајући конформационе промене β ланца. То условљава откривање везивних места за АТР и супстрат, чиме се активира тирозин киназа. Зависно од тога који се унутарћелијски супстрати фосфорилишу, покрећу се најмање два различита пута сигналне трансдукције:
 - протеин киназа активирана митогенима (MAP) - одговорна за покретање митогених ефеката инсулина;
 - фосфатидилинозитол-3 киназни (PI-3) пут - посредује у већини метаболичких ефеката инсулина.

Инсулин

-сигнална трансдукција



(а) Везивање инсулина стимулише аутофосфорилацију β ланаца при чему сваки β ланац фосфорилише суседни β ланац.

(б) Фосфатне групе су везане за три специфична остатка тирозина.

(ц) Активација тирозин киназе на β ланцу доводи до фосфорилације протеина који активирају MAP и PI-3 киназне путеве.

Производња инсулина

-конвенционални препарати

- Конвенционални препарати инсулина првобитно су се производили директном екстракцијом из ткива панкреаса свиње/говечета.
- Недостаци конвенционалних препарата инсулина су:
 - Имуногеност - Разлике у броју аминокиселина хуманог и анималног инсулина могу изазвати имунски одговор и дуготрајне компликације. Присуство антиинсулинских антитела утиче на фармакокинетички профил лека, јер су молекули инсулина везани за антитела у великој мери резистентни на разградњу. Свињски инсулин се разликује од хуманог само у једној аминокиселини (на позицији 30 Б ланца уместо треонина налази се аланин) и није имуноген. Међутим, многи додатни молекули присутни у препарату свињског инсулина (укључујући свињски проинсулин) су имуногени.
 - Доступност - Од дијабетеса тренутно болује око 450 милиона људи, па годишња потреба за инсулином премашује 10 t, што представља проблем за добијање инсулина анималног порекла.

Производња инсулина

-рекомбинантна ДНК технологија

- Први хумани инсулин произведен рекомбинантном ДНК технологијом одобрен је за клиничку употребу 1982. године.
- Од '90-их година прошлог века неколико инжењерисаних хуманих инсулина, као и њихових аналога је одобрено за клиничку примену.
- Рекомбинантна ДНК технологија је олакшала производњу хуманог инсулина у микробиолошким системима и омогућила стварање инсулина са модификованим секвенцама аминокиселина.

Производња инсулина

-рекомбинантна ДНК технологија

- Првобитни приступ - хумани инсулини *crb*:
 - Нуклеотидне секвенце за инсулинске А и Б ланце инсертују се у две различите ћелије *E. coli* (соја K12) које се у ферментационим посудама великих запремина култивишу одвојено. Након хроматографског пречишћавања, у циљу настанка дисулфидних веза произведени ланци инсулина се заједно инкубирају у одговарајућим оксидационим условима. На овај начин добијају се "хумани инсулини *crb*" (*chain recombinant bacterial*).
- Једноставнија ферментација и пречишћавање - хумани инсулини *prb*:
 - Нуклеотидна секвенца која кодира хумани проинсулин се инсертују у рекомбинантну *E. coli*. Након пречишћавања експримираног проинсулина, С пептид се протеолитички одваја *in vitro*. На овај начин добијају се "хумани инсулини *prb*" (*proinsulin recombinant bacterial*).

Производња инсулина

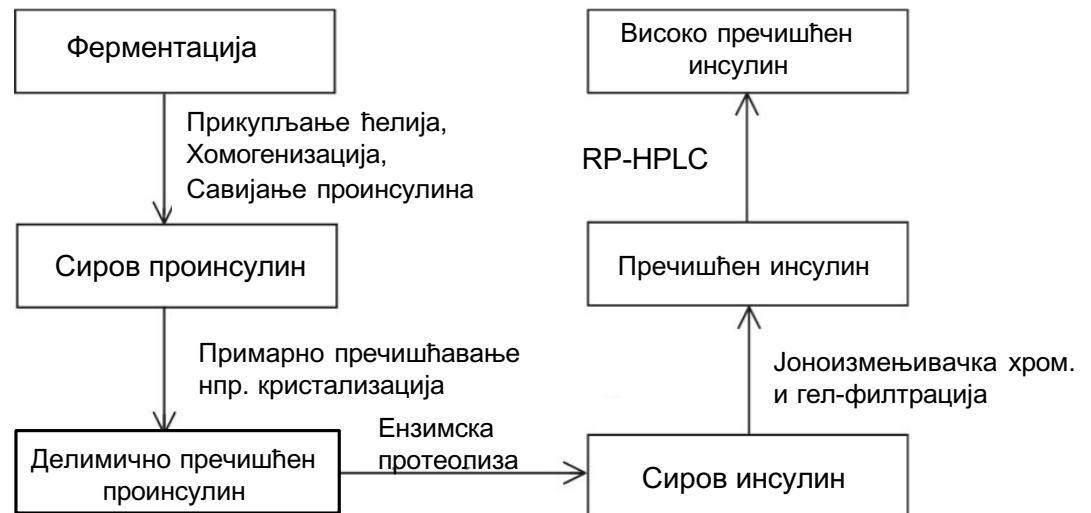
-рекомбинантна ДНК технологија

- Рекомбинантни производ добијен овим методама има идентичну аминокиселинску секвенцу као нативни инсулин.
- Да би се уклониле потенцијалне нечистоће у производу, које потичу од микробиолошких ћелија, неопходно је да се препарат вишестепено пречисти хроматографским методама:
 - често гел-филтрација и јоноизмењивачка хроматографија, заједно са додатним корацима који се заснивају на разликама у хидрофобности молекула, хроматографија заснована на хидрофобним интеракцијама или хроматографија реверзне фазе.

Производња инсулина

-рекомбинантна ДНК технологија

- У производњу хуманог инсулина *prb* уведен је корак додатног пречишћавања RP-HPLC методом.
 - Уклањају се нечистоће од *E. coli* и ефикасно одвајају измењени облици инсулина од нативног инсулинског производа.
 - Сирови производ који се додаје у колону је степена чистоће ~92%, увођењем овог корака добија се финални производ чистоће ~99%.
 - Кисела мобилна фаза (сирћетна киселина) задржава инсулин у раствору, а градијент за елуирање се постиже коришћењем 15 - 30% ацетонитрила.



Рекомбинантна ДНК технологија

-аналози инсулина

- Инсулин се везује за рецепторе преко аминокиселинских остатака на позицијама:
 - 1, 5, 19, 21, А ланца и 10, 16, 23-25 Б ланца.
- Аналози инсулина са супституисаним аминокиселинама у некој од наведених позиција имају повећану активност.
 - Заменом хистидина глутаминском киселином на позицији Б10, добијен је аналог који има петоструко већу активност *in vitro*.
- Аналози инсулина са супституисаним аминокиселинама у другим позиција имају специфичнију активност.

Рекомбинантна ДНК технологија

-аналози инсулина

- Инсулин се у физиолошким условима (концентрација $\approx 1 \times 10^{-9}$ mol/L) налази у облику мономера, а при вишим концентрацијама ($\approx 1 \times 10^{-3}$ mol/L) формира полимере градећи везе између аминокиселина на позицијама 8, 9, 12, 13, 16 и 23–28 Б ланца.
 - Мономер инсулина (*i.v.*) има полуживот од неколико минута.
 - Поједини препарати делују дуже јер садрже смешу мономера, димера, тетрамера и Zn-инсулин хексамера, а да би се инсулин апсорбовао у крв, неопходна је дисоцијација инсулинских комплекса до мономера.
 - Аналози инсулина са супституисаним аминокиселинама у наведеним позицијама не формирају димере/олигомере.
 - Аминокиселине се најчешће супституишу наелектрисаним или волуминозним аминокиселинама, како би између појединих мономера инсулина дошло до репулзије наелектрисања или стерних сметњи.

Рекомбинантна ДНК технологија

-аналози инсулина

- Дејство инсулина се продужава када се формулише у виду суспензије:
 1. Додавањем цинка како би се поспешио настанак кристала Zn-инсулин (потребно је више времена за дисоцијацију, а самим тим и више времена за апсорпцију).
 2. Додавањем протеина са којим ће инсулин наградити комплекс и из којег ће се полако ослобађати.
 - Протеини који се најчешће користе су протамини. У зависности од релативних моларних односа инсулина и коришћеног протамина, настали дугоделујући инсулини се називају протамин-Zn-инсулини или изофан инсулини.
- Двофазни инсулини представљају мешавину инсулина кратког и дугог деловања који опонашају физиолошке пикове инсулина.

Рекомбинантна ДНК технологија

-аналози инсулина

- Према фармакокинетичком профилу препарати инсулина могу бити:
 - **Брзоделујући** – почетак деловања: 5-30 минута; достизање пика: 0,5 - 1 h; дужина деловања: 2,5 - 5 h.
 - **Краткоделујући** (регулаторни) – почетак деловања: ~30 минута; достизање пика: ~3 h; дужина деловања: 4 - 12 h.
 - **Средњеделујући** – почетак деловања: 60 - 90 минута; достизање пика: 4 - 12 h; дужина деловања: ~12 h.
 - **Дугоделујући** – почетак деловања: 3 - 4 h; не достижу пик; дужина деловања: до 24 h.
 - **Ултрадугоделујући** – почетак деловања: 6 h (гларгин), 1 h (деглудек); не достижу пик; дужина деловања: више од 24 h (гларгин), више од 42 h (деглудек).

Брзоделујући инсулини

- Брзоделујући инсулини у терапијским концентрацијама не стварају димере/више полимере, па се много брже апсорбују од природног, растворљивог инсулина.
- За разлику од конвенционалних препарата који се примењују један час пре, брзоделујући инсулини се примењују непосредно пред оброк. Брзо снижавају ниво глукозе у крви и делују веома кратко.
- У брзоделујуће инсулине убрајају се:
 - лиспро U-100 (*Humalog*®),
 - аспарт U-100 (*Novolog*®),
 - глулизин U-100 (*Apidra*®),
 - инхалациони хумани инсулин (*Afrezza*®).

Брзоделујући инсулини

-лиспро

- Инсулин лиспро (*Humalog*®) је први инжењерисани брзоделујући инсулин који је 1996. године одобрен за лечење ДМ.
- Инсулин лиспро се производи на начин сличан проинсулинској рути.
- Аминокиселинска секвенца се од нативног хуманог инсулина разликује само по инверзији редоследа секвенци пролин-лизин на позицијама Б28 и Б29 инсулина. На тај начин је:
 - спречено стварање хидрофобних интеракција унутар ланца које су одговорне за агрегацију молекула инсулина;
 - смањена агрегација појединих молекула инсулина током чувања;
 - димеризација инсулина лиспро 300 пута мања од немодификованог хуманог инсулина.

Брзоделујући инсулини

-лиспро

- Синтетички ген који кодира лизин^{B28}-пролин^{B29} проинсулин експримира се у *E. coli*. Након ферментације и изоловања, проинсулин се третира трипсином и карбоксипептидазом Б, који протеолитички разграђују инжењерисани молекул проинсулина и хроматографски пречишћава до хомогености.
- Финална формулација производа садржи:
 - *m*-крезол (конзерванс и стабилизатор), цинк-оксид (стабилизатор), глицерол (средство за подешавање тоничности) и фосфатни пуфер.
- Примењује се s.c. у комбинацији са дугоделујућим инсулинима. Максималну концентрацију достиже након 1 часа од примене, а делује 3-4 часа.
- Пакује се у бочице, патроне или пенове и чува на температури од 2-8 °C.

Брзоделујући инсулини -аспарт

- Инсулин аспарт (*Novorapid*[®], *Novolog*[®]) је други брзоделујући инжењерисани хумани аналог инсулина који је одобрен за клиничку примену.
- Производи се рекомбинантном ДНК технологијом у *Saccharomyces cerevisiae*.
- Разликује се од хуманог инсулина по томе што је пролин у позицији Б28 замењен аспарагинском киселином. Ове измене довеле су до:
 - смањене способности удруживања и формирања полимера;
 - повећане апсорпција након s.c. инјекције у односу на апсорпцију након примене природног инсулина.

Брзоделујући инсулини -глулизин

- Глулизин (*Apidra*®) је инжењерисани брзоделујући инсулин, који је одобрен за клиничку примену 2004. године.
- Производи се рекомбинантном ДНК технологијом у *E. coli* K12.
- Разликује се од хуманог инсулина по томе што је аргинин у позицији Б3 замењен лизином и лизин у позицији Б29 замењен глутаминском киселином. Ове измене довеле су до:
 - смањења формирања хексамера;
 - стабилизације мономера;
 - повећане апсорпције и почетка дејства у односу на хумани инсулин.
- Финална формулација производа садржи *m*-крезол (конзерванс и стабилизатор), трометамин, натријум хлорид, *Polysorbate* 20. За разлику од осталих инсулина, глулизин не садржи цинк.

Брзоделујући инсулини

-инхалациони хумани инсулин

- Инхалациони хумани инсулин (*Afrezza*®) је инжењерисани брзоделујући инсулин, који је одобрен за клиничку примену 2014. године.
- Производи се рекомбинантном ДНК технологијом у *E. coli*.
- Инхалациони хумани инсулин 10 - 20 минута након примене снижава ниво глукозе, максималан ефекат остварује након ≈ 2 h, а његово дејство траје око 6 h.
- Примењује се инхалационо и не препоручује се пацијентима са смањеном плућном функцијом, кетоацидозом, као ни онима који конзумирају цигарете.
- Финална формулација производа садржи *Polysorbate 80* и дикетопиперазин чија је улога да побољша испоруку до плућа.

Краткоделујући инсулини

- Природни (регуларни, кристални) инсулин (*Humulin® R*, *Novolin® R*) је инжењерисани инсулин кратког дејства, одобрен 1991. године.
- Производи се рекомбинантном ДНК технологијом у *Saccharomyces cerevisiae*.
- Примењује се s.c. 30-ак минута пре оброка, а може да се примењује и i.v. па је зато посебно погодан у хитним стањима код кетоацидозе, после операције или током тешких инфекција.

Средњеделујући инсулини

- Хумани изофан инсулин (*Humulin® NPH*) је инжењерисани инсулин који има исту структуру као природни хормон и има средње дуго дејство, понекад се називају и средњедугоделујући инсулини.
- Формулише се у облику суспензије тј. представља мешавину инсулина и протамина, па је неопходно да се ресуспендује пре сваке употребе.
- Дејство му почиње за око 2 часа, а траје око 24 часова.

Дугоделујући инсулини

- Дугоделујући инсулини немају пик дејства и њихово дејство траје око 24 h. Често се називају и базални (основни) инсулини јер одржавају константан ниво инсулина у крви током дана.
- Најчешће се примењују једном или два пута дневно.
- У дугоделујуће инсулине убрајају се:
 - гларгин U-100 (*Optisulin*[®], *Lantus*[®], *Semglee*[®], *Abasaglar*[®]),
 - детемир U-100 (*Levemir*[®]).

Дугоделујући инсулини

-гларгин

- Гларгин (*Optisulin*[®], *Lantus*[®], *Semglee*[®], *Abasaglar*[®]) је дугоделујући инжењерисани инсулин који је 2000. године одобрен за клиничку примену.
- Производи се рекомбинантном ДНК технологијом у *E. coli* K12.
- Гларгин се од нативног хуманог инсулина разликује по томе што је аспарагин у С-терминусу на позицији 21 А ланца замењен глицином, а Б ланац је на С-терминусу продужен за два аргинина на позицијама Б31 и Б32. Ове измене су довеле до:
 - повећања pI вредности са 5,4 на $\approx 7,0$;
 - смањене растворљивости у физиолошким pH ;
 - повећане стабилности;
 - стабилније хексамерне структуре.
- Производи се проинсулинском рутом.

Дугоделујући инсулини

-гларгин

- Пречишћени производ је потпуно растворљив, када се формулише на рН вредности 4.
- Након s.c. примене, долази до пораста рН вредности инсулина ка неутралнијим вредностима, што доводи до таложења инсулина у супкутаном ткиву. Инсулин се спорије ослобађа из ткива и спорије стиже у крвоток. Сходно томе, једна инјекција дневно омогућава одржавање прихватљивог базалног нивоа инсулина у крви, а молекули инсулина се и 25 h након примене могу детектовати на месту примене.

Дугоделујући инсулини -детемир

- Детемир (*Levemir*®) је инжењерисани инсулин дугог дејства одобрен за клиничку употребу 2004. године.
- Разликује се од нативног инсулина јер у позицији Б30 нема треонин (што је важно за фармакокинетичке особине), већ садржи С14 (миристинску) масну киселину ковалентно везану за лизин на позицији Б29. Ове измене су омогућиле:
 - реверзибилно везивање за албумин (на месту примене и у плазми);
 - Албумин садржи три везивна места високог афинитета за масне киселине.
 - константно и продужено ослобађање растворљивог инсулина током 24 h.
- Производња овог инсулина подразумева почетну експресију инсулина у инжењерисаној *S. cerevisiae*, пречишћавање и ацилацију (везивање масне киселине).

Ултрадугоделујући инсулини

- Како би се превазишла постојећа ограничења, развијени су и биолошки инжењерисани аналози инсулина ултрадугог дејства са побољшаним фармакодинамским профилем.
- Имају продужени ефекат, немају пик и одржавају ниво глукозе дуже од 24 h након примене. На овај начин омогућавају већу флексибилност пацијентима јер време примене нове дозе не мора да буде толико стриктно, што директно утиче и на побољшану комплијансу.
- У ултрадугоделујуће инсулине убрајају се:
 - високо концентровани гларгин U300 (*Toujeo*®)
 - деглудек U100, U200 (*Tresiba*®)

Ултрадугоделујући инсулини -деглудек

- Деглудек (*Tresiba*®) је инжењерисани инсулин дугог дејства, одобрен за клиничку примену 2015. године.
- Производи се рекомбинантном ДНК технологијом у *S. cerevisiae*.
- Од хуманог инсулина разликује се по одсуству треонина на позицији Б30, а за лизин у позицији Б29, преко глутаминске киселине која представља линкер, везана је С16 масна (палмитинска, хексадеканска) киселина.
 - Ацилација лизина на Б29 продужава деловање везивањем за албумин у крви, као што је већ описано код детемира.
- Формулише се у присуству резорцинола и јона цинка који омогућавају стварање хексамера, док додатно присуство фенола омогућава стварање дихексамера.
- Након s.c. примене деглудека стварају се мултихексамери, који се таложе у поткожном ткиву.

Инжењерисани инсулини

-безбедност и ефикасност

- Производња инжењерисаних аналога инсулина покренула је питања о безбедности и ефикасности, јер се сматрало да промена аминокиселинске секвенце нативног протеина може:
 - негативно утицати на фармакокинетске и/или фармакодинамске карактеристике лека;
 - створити имуноген молекул.
- Ове спекулације су детаљно испитане јер се инсулини примењују свакодневно током целог живота.
 - Сprovedена претклиничка и клиничка испитивања за аналоге инсулина присутне на тржишту, потврдила су њихову безбедност и ефикасност.
 - Промене секвенци су релативно мале, најчешће не изазивају имунски одговор и не утичу на способност молекула инсулина да интерагује са рецептором и покрене карактеристични биолошки одговор.

Инжењерисани инсулини

-безбедност и ефикасност

- Главни нежељени ефекат свих препарата инсулина је **хипогликемија**, али могу да изазову и:
 - Повећање телесне тежине (посебно на почетку терапије),
 - Квржице, атрофију/хипертрофија масног ткива, ожиљке и бол на месту примене,
 - Осип на месту примене, ретко по целом телу,
 - Хипокалијемију...

Инсулин и аналози

- регистровани у Р. Србији

Генерички назив	Заштићен назив	Експресиони систем	Формулација
Инсулин хумани кристални	<i>Actrapid Penfill</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Раствор за инј. у улошку
	<i>Humulin R</i>	<i>E. coli</i>	Раствор за инј. у улошку
	<i>Insuman Rapid SoloStar</i>	<i>E. coli</i>	Раствор за инј. у пену са улошком
Лиспро	<i>Humalog</i>	<i>E. coli</i>	Раствор за инј. у улошку
Аспарт	<i>Fiasp</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Раствор за инј.
	<i>Fiasp FlexTouch</i>		Раствор за инј. у пену
	<i>Fiasp Penfill</i>		Раствор за инј. у улошку
	<i>NovoRapid</i>		Раствор за инј.
Глулизин	<i>Novomix</i>	<i>E. coli</i>	Раствор за инј.у пену са улошком
	<i>Apidra SoloStar</i>		

Инсулин и аналози

- регистровани у Р. Србији

Генерички назив	Заштићен назив	Експресиони систем	Формулација
Инсулин хумани изофан	<i>Humulin NPH</i>	<i>E. coli</i>	Суспензија за инј. у улошку
	<i>Humulin NPH KwikPen</i>	<i>E. coli</i>	Суспензија за инј. у пену са улошком
	<i>Insulatard Penfill</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Суспензија за инј. у улошку
	<i>Insuman Basal SoloStar</i>	<i>E. coli</i>	Суспензија за инј. у пену са улошком

Инсулин и аналози

- регистровани у Р. Србији

Генерички назив	Заштићен назив	Експресиони систем	Формулација
Инсулин хумани кристални 30% + инсулин хумани протамин изофан 70%	<i>Humulin M3</i> <i>Humulin M3 KwikPen</i> <i>Mixtard 30 Penfill</i>	<i>E. coli</i> <i>E. coli</i> <i>S. cerevisiae</i>	Суспензија за инј. у улошку Суспензија за инј. у пену са улошком Суспензија за инј. у улошку
Инсулин хумани кристални 25% + инсулин хумани изофан 75%	<i>Insuman Comb 25</i> <i>SoloStar</i>	<i>E. coli</i>	Суспензија за инј. у пену са улошком
Раствор лиспро 25% + лиспро прототаминска суспензија 75%	<i>Humalog Mix25</i>	<i>E. coli</i>	Суспензија за инј. у улошку

Инсулин и аналози

- регистровани у Р. Србији

Генерички назив	Заштићен назив	Експресиони систем	Формулација
Раствор лиспро 50% + лиспро прототаминска суспензија 50%	<i>Humalog Mix50</i>	<i>E. coli</i>	Суспензија за инј. у улошку
Аспарт растворљиви 30% + аспарт протамин кристални 70%	<i>NovoMix 30 FlexPen</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Суспензија за инј. у пену
Деглудек 70ј + Аспарт 30ј	<i>Ryzodeg Flex Touch Ryzodeg Penfill</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Раствор за инј. у пену са улошком Раствор за инј. у улошку

Инсулин и аналози

- регистровани у Р. Србији

Генерички назив	Заштићен назив	Експресиони систем	Формулација
Гларгин	<i>Abasaglar</i> <i>Lantus SoloStar</i> <i>Toujeo</i> <i>Semglee</i>	<i>E. coli</i>	Раствор за инј. у улошку Раствор за инј.у пену са улошком Раствор за инј.у пену са улошком
Гларгин+ликсисенатид	<i>Suliqua</i>	<i>E. coli</i>	Раствор за инј.у пену са улошком
Детемир	<i>Levemir FlexPen</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Раствор за инј.у пену са улошком
Деглудек	<i>Tresiba FlexTouch</i> <i>Tresiba Penfill</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Раствор за инј. у пену са улошком Раствор за инј. у улошку
Деглудек + лираглутид	<i>Xulthpy</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Раствор за инј. у пену са улошком

Глукагон

- Глукагон је једноланчани полипептид састављен од 29 АК, молекулске масе око 3500 Da.
- Синтетишу га α -ћелије Лангерхансових острваца и поједине ћелије дигестивног тракта. Примарно се синтетише молекул веће молекулске масе из којег протеолизом настаје зрели хормон глукагон. Складишти се у секреторним везикулама, а када дође до пада концентрације глукозе у крви ослобађа се егзоцитозом.
- Глукагон у организму:
 - антагонизује дејство инсулина, повећава ниво глукозе у крви (спречавање хипогликемије),
 - стимулише разградњу гликогена, липида и протеина (катаболички ефекат).

Глукагон

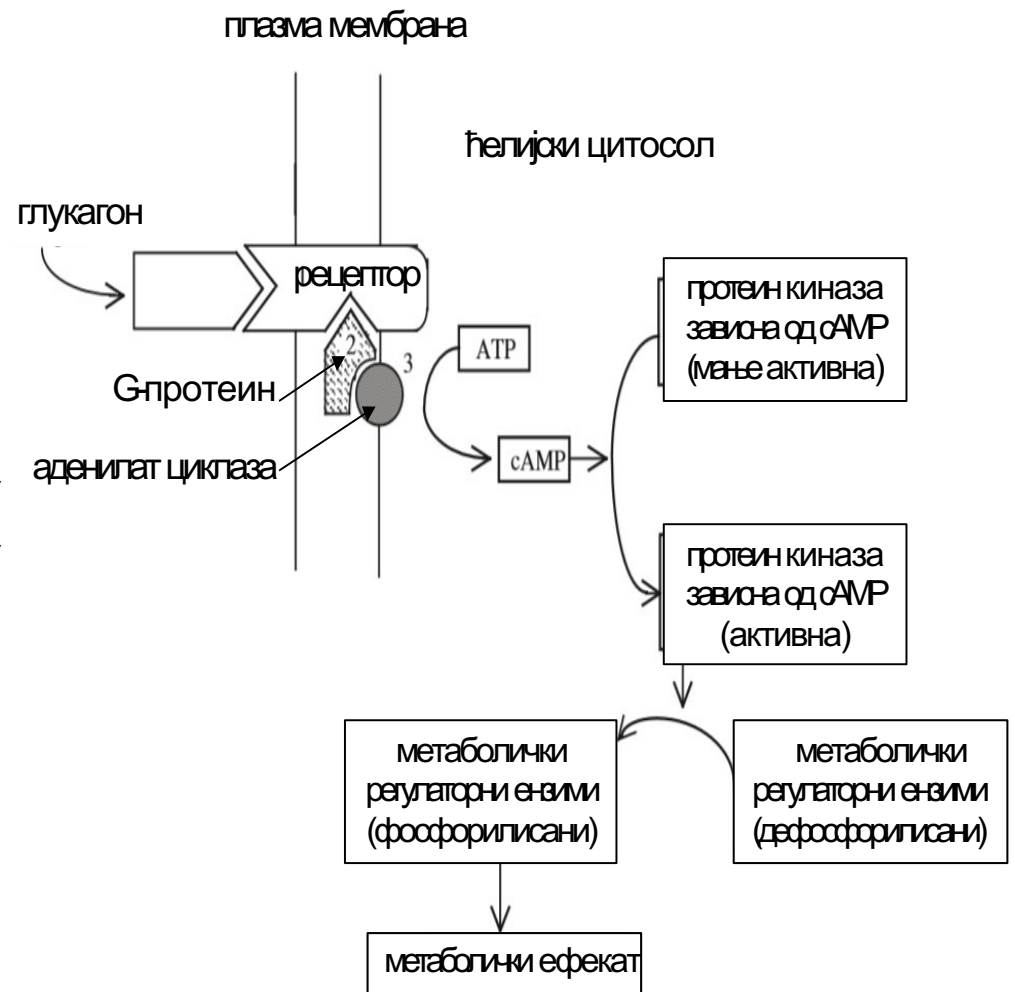
-терапијска примена

- Користи се за лечење хипогликемије, која најчешће настаје након примене инсулина, услед:
 - примене превелике дозе инсулина;
 - примене инсулина уз изостављање obroка;
 - повећане физичке активности.
- У тешким случајевима хипогликемија може довести до губитка свести, па чак и смрти.
- Хипогликемија изазвана инсулином се лечи пероралном или *i.v.* применом глукозе, а понекад и глукагона.
- Глукагон се може користити као дијагностичко средство током одређених радиолошких прегледа желуца, танког и дебелог црева јер инхибира покретљивост глатких мишића који облажу зидове гастроинтестиналног тракта.

Глукагон

-механизам дејства

- Глукагон се везује за специфичне рецепторе на површини ћелија и стимулише активност аденилат киназе, при чему се повећава концентрација cAMP у ћелијама.
- cAMP активира протеин киназу која потом активира киназу фосфорилазе. Активна киназа фосфорилише метаболичке регулаторне ензиме и преводи их у активан облик који индукује метаболичке ефекте (нпр. гликогенолизу).



Покретање метаболичког одговора након везивања глукагона за рецептор.

Глукагон

-конвенционални препарати

- Конвенционални препарати глукагона су првобитно добијани из говеђег или свињског панкреаса.
 - Структура говеђег, свињског и хуманог глукагона је идентична, чиме се елиминише могућност директних имунолошких компликација.
- Комерцијални препарати су хроматографски пречишћени и углавном формулисани као лиофилизати уз додатак лактозе и натријум хлорида.
- Примењују се *s.c.* или *i.m.* ($\approx 0,5 - 1,0$ mg лиофилизата).
- На тржишту постоји и синтетски глукагон за назалну примену (*Baqsimi*[®]). Састоји се од 29 АК и идентичан је нативном молекулу. Формулише се у облику сувог праха, док се као нови ексципијенси користе фосфолипид додецилфосфохолин (DPC), који има улогу сурфактанта и појачивача апсорпције, као и бета-циклодекстрин (β -CD) као средство за пуњење и појачивач апсорпције .

Глукагон

-рекомбинатни препарати

- Рекомбинантни глукагон (*Glucagen*®) се добија употребом инжењерисаног соја *S. cerevisiae*.
- *Upstream* процес (аеробна ферментација) је праћен подешавањем рН вредности медијума у циљу растварања преципитираног производа.
 - Глукагон је нерастворан у воденом медијуму при рН вредности 3 - 9,5, па је накнадно уклањање *S. cerevisiae* центрифугирањем олакшано.
- Глукагон се затим издваја и пречишћава из медијума преципитацијом и хроматографијом.
- Такође, рекомбинантни глукагон се може производити коришћењем инжењерисаног соја *E. coli*.

Глукагон

-регистрован у Р. Србији

Генерички назив	Заштићен назив	Експресиони систем	Индикација	Формулација
Глукагон	<i>Glucagen Hypokit</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Акутна хипогликемија код дијабетичара, тровање бета блокаторима, као инхибитор мотилитета ГИТ-а у премедикацији код радиографских и ендоскопских испитивања, СТ-а, NMR-а.	Прашак и растварач у шприцу за раствор за инј. за <i>i.m.</i> , <i>i.v.</i> и <i>s.c.</i>

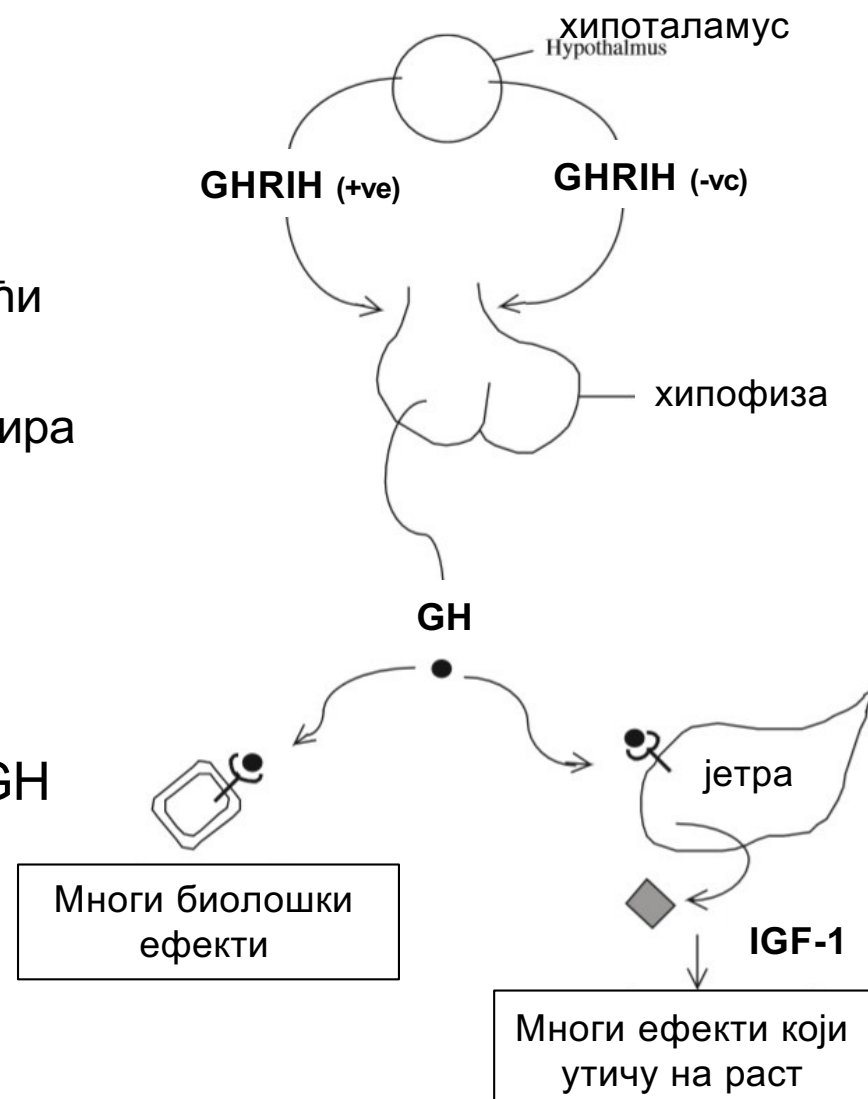
Хумани хормон раста -биохемија

- Хумани хормон раста (соматотропин, hGH) је полипептидни хормон који се синтетише у предњем режњу хипофизе.
- Зрели hGH се састоји од 191 аминокиселине, молекулске масе 22 kDa. Садржи две карактеристичне интраланчане дисулфидне везе. Постоји и скраћен облик GH молекула (20 kDa) чије се биолошке активности не разликују од претходно описаног облика (22 kDa).
- GH је специфичан за врсте, па је код људи биолошки активан препарат GH који је изолован из примата.

Хумани хормон раста

-биохемија

- Синтеза и ослобађање GH из хипофизе регулисани су:
 - соматорелином (GH-ослобађајући хормон (GHRH) или GH-ослобађајући фактор (GHRF));
 - соматостатином (хормон који инхибира ослобађање GH (GHRH)).
- GH биолошке ефекте остварује директно или индиректно.
- Ефекат на раст је индиректан и посредован IGF-1. GHRH, GHRH, GH и IGF-1 тако формирају хормонску осовину.



Схематски приказ ослобађања и механизма дејства GH

Хумани хормон раста

-рецептор

- GH индукује карактеристичне биолошке ефекте везивањем за своје рецепторе на површини ћелије.
- Хумани GH рецептор је једноланчани, трансмембрански полипептид који садржи 620 АК. Члан је суперфамилије хематопоеетских рецептора (која укључује рецепторе за неколико интерлеукина, GM-CSF и EPO).
- Ензимском деградацијом интегралног мембранског рецептора настају слободни везујући протеини GH (GHBP). У серуму се хормон раста везује за два GHBP и на тај начин продужава полуживот у крви.

Хумани хормон раста

-биолошки ефекти

- hGH примарно делује анаболички и делимично стимулише раст ћелија костију, мишића и хрскавице.
- Везивањем GH за рецепторе у јетри синтетише се и ослобађа IGF-1, који посредује у већини активности GH.
- Недостатак секреције hGH током година активног раста доводи до настанка патуљастог раста ➔ индикована је егзогена примена hGH
- Прекомерна производња hGH:
 - током активног раста доводи до настанка гигантизма;
 - након завршетка примарног раста доводи до настанка акромегалије.

Хумани хормон раста

-биолошки ефекти

- Главни ефекти посредовани hGH су:
 - раст (посебно костију и скелетних мишића);
 - стимулисање синтезе протеина у многим ткивима;
 - разградња депонованих липида масног ткива (липолитички ефекат);
 - повећање нивоа глукозе у крви;
 - повећање величине бубрега и реналне функције;
 - стимулација производње ретикулоцита у костној сржи.

Хумани хормон раста

-терапијска примена

- Први пут је hGH изолован из хумане хипофизе и примењен у терапији 1958. године.
- hGH има потенцијално широк спектар терапијске примене:
 - **третман ниског раста, узрокован недостатком GH;**
 - лечење неправилног раста, изазван различитим болестима/медицинским стањима (Турнеров синдром; идиопатски патуљаста раст; хронична бубрежна инсуфицијенција)
 - индукција лактације;
 - сузбијање старења;
 - лечење гојазности;
 - индукција овулације.

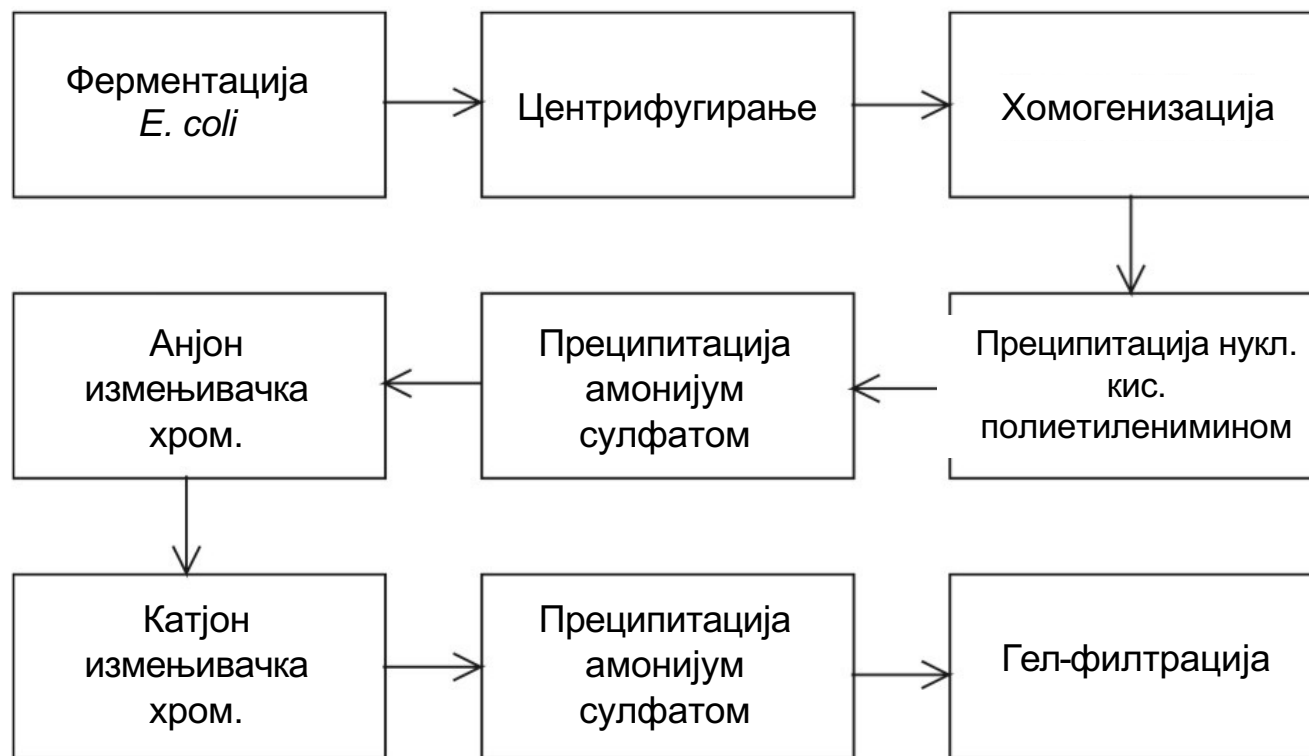
Хумани хормон раста

-терапијска примена

- hGH се најпре добијао екстракцијом из хипофизе преминулих. Међутим, 1985. године је откривено да инфицирани екстракт хипофизе (путем приона) може довести до настанка неуролошког обољења, *Creutzfeld–Jacob*-ове болести.
- Због тога се данас у клиничкој пракси користе искључиво hGH препарати добијени рекомбинантном ДНК технологијом.
- rhGH (соматропин) је првобитно произведен у *E. coli* почетком '80-их година. Првобитни рекомбинантни препарати разликовали су се од нативног хуманог хормона само по додатном метионину.

Хумани хормон раста -терапијска примена

- Међутим, другачија стратегија клонирања омогућила је да се данас у *E. coli* производи rhGH који је идентичан hGH (без терминалног метионина).



Производња rhGH у *E. coli* (интрацелуларни протеин)

Хумани хормон раста

-регистрован у Р. Србији

Генерички назив	Заштићен назив	Експресиони систем	Индикација	Формулација
Хормон раста	<i>Genotropin</i>	<i>E. coli</i>	<p><i>Деца:</i> Недостатак hGH Турнеров синдром</p> <p><i>Одрасли:</i> Супституциона терапија</p>	Прашак и растварач у шприцу за раствор за инј. за <i>i.m.</i> и <i>s.c.</i> (уложак и пен са улошком)
	<i>Norditropin</i> <i>Nordilet</i>	<i>E. coli</i>		Раствор за инј. у пену за <i>s.c.</i>
	<i>Omnitrope</i>	<i>E. coli</i>		Раствор за инј. у улошку за <i>s.c.</i> и <i>i.m.</i>
	<i>Saizen</i>	Ћелијске линије миша C127		Раствор за инј. у улошку за <i>s.c.</i> и <i>i.m.</i>

Гонадотропини

-биохемија

- Гонадотропини су фамилија хормона чији су примарни физиолошки циљ гонаде (полне жлезде). Директно и индиректно регулишу репродуктивну функцију и развој секундарних полних карактеристика. Најважнији хормони ове фамилије су:
 - фоликулостимулирајући (FSH) – синтетише се у хипофизи, стимулише раст фоликула и повећава сперматогенезу;
 - лутеинизирајући (LH) – синтетише се у хипофизи, индукује овулацију и синтетише тестостерон;
 - хорионски гонадотропин (CG) – синтетише се у плаценти, има улогу у развоју ембриона током ране трудноће и у одржавању жутог тела током трудноће.
- Синтезу и ослобађање FSH и LH из хипофизе стимулише гонадотропин-ослобађајући хормон (GnRH, гонадорелин, хормон који ослобађа LH или фактор ослобађања LH/FSH).

Гонадотропини

-биохемија

- Наведени гонадотропини се сврставају у хетеродимерне хормоне који садрже:
 - идентичну α -полипептидну подјединицу и
 - јединствену β -полипептидну подјединицу преко које остварују специфичну биолошку активност.
- Обе подјединице зрелих протеина су гликозилиране.
- Олигосахаридне компоненте гонадотропина:
 - су хетерогене природе, а структурно се разликују према садржају сијалинске киселине и сулфатних група, што условљава њихово хетерогено наелектрисање;
 - имају директну и централну улогу у биосинтези, излучивању, полуживоту у серуму и потентности;

Гонадотропини

-биохемија

- Угљенохидратне компоненте везане за:
 - α -подјединицу имају важну улогу у:
 - формирању димера и стабилности,
 - секрецији хормона и сигналној трансдукцији.
 - β -подјединицу:
 - доприносе формирању димера,
 - али имају значајнију улогу у елиминацији хормона из циркулације.

Фоликулостимулирајући хормон

-структура

- FSH је полипептид, молекулске масе 34 kDa
 - » 30% чини његова угљенохидратна компонента
- α - и β -подјединице FSH су нековалентно везане и депоноване у секреторним везикулама одвојено од оних које садрже LH.
- Хумани FSH има четири потенцијална места за N-гликозилацију:
 - на позицијама 52 и 78 Asn α -подјединице и
 - на позицијама 7 и 24 Asn β -подјединице.

Фоликулостимулирајући хормон -рецептор

- FSH-рецептори садрже седам трансмембранских домена који су преко G-протеина везаних за мембрану функционално спојени за аденилат циклазу. На овај начин се ствара cAMP.
 - *Екстрацелуларни домен* рецептора је гликозилиран;
 - *Трансмембрански домен* садржи два цистеинска остатка који формирају дисулфидну везу и на тај начин стабилизују структуру рецептора.
 - *C-терминални домен* је интрацелуларни и кратак, али богат остацима серина и треонина на којима може доћи до фосфорилације.

Фоликулостимулирајући хормон

-биолошки ефекти

- FSH углавном делује на гранулоза ћелије фоликула јајника:
 - има митогени ефекат,
 - стимулише њихову деобу, а самим тим и раст и развој фоликула.
- FSH има улогу и у:
 - покретању ензимске производње гликозаминогликана (који чине есенцијалну компоненту фоликуларне течности),
 - експресији ароматазе и других ензима који су укључени у синтезу естрогена.
- FSH делује и на Сертолијеве ћелије, које се налазе у зидовима семених каналића тестиса, а главни физиолошки ефекат FSH код мушкараца је сперматогенеза.

Лутеинизирајући хормон

-структура и рецептор

- LH је полипептид, молекулске масе 28,5 kDa.
 - Ген који кодира β -подјединицу овог гликопротеинског хормона присутан је на хуманом хромозому број 19 и има значајну хомологију секвенце са CG.
- LH рецептор (93 kDa) се налази у Лејдиговим ћелијама тестиса и на јајним тека ћелијама, као и у гранулоза, лутеинским и интерстицијским ћелијама.
- FSH повећава осетљивост Лејдигових ћелија тестиса на активност LH, повећавајући број LH рецептора на ћелијској површини.

Лутеинизирајући хормон

-LH/hCG рецептори и биолошки ефекти

- LH/hCG рецептори се налазе у великом броју гонадалних (утерус, цервикс, плацента, јајовод, дојке, семене везикуле, сперматозоиди) али и негонадалних ткива (кожа, крвни судови, мозак, простата, бешика...)
- LH стимулише синтезу тестостерона од стране Лејдигових ћелија тестиса.
- Код жена LH делује на тека ћелије и стимулише их да производе андрогене. Андрогене (тестостерон) преузимају гранулоза ћелије и претварају их у естрогене помоћу ензима ароматазе. Дакле, фоликул представља главну женску ендокрину гонадну јединицу у којој гранулоза и тека ћелије делују синергистички у синтези естрогена. Физиолошки, LH код жена има главну улогу у сазревању доминантног фоликула и кључан је за покретање овулације.

Гонадотропини

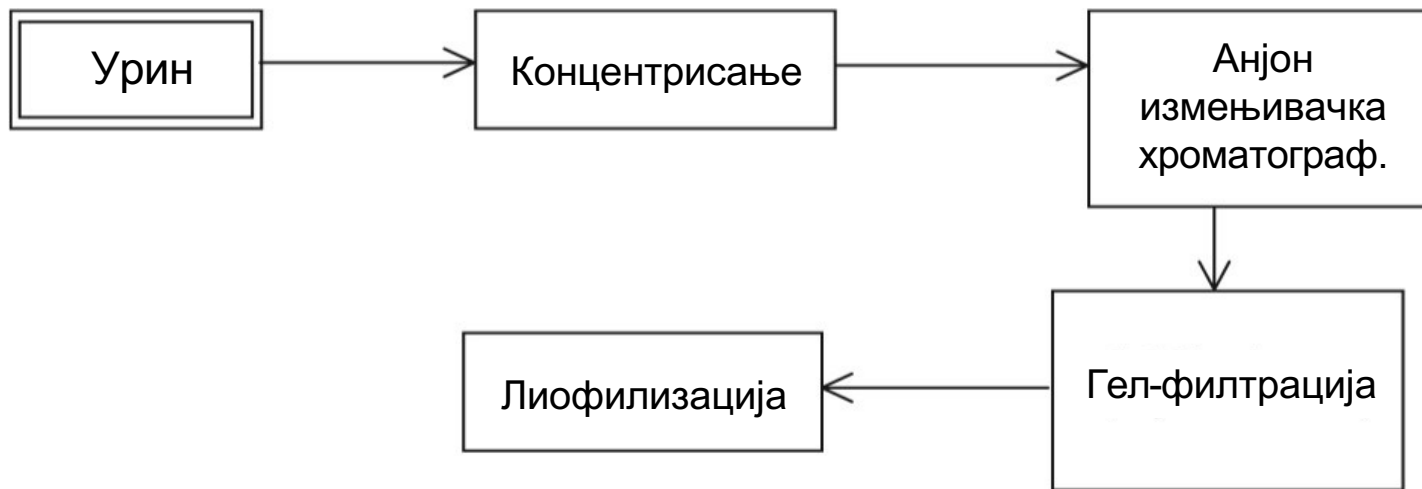
-клиничка примена

- Због њихове централне улоге у одржавању репродуктивне функције, гонадотропина се терапијски користе у лечењу субфертилности/неких облика неплодности.
- Хумана хипофиза је извор гонадотропина, али је непрактично да се из ње добијају клинички значајне количине ових хормона.
- **FSH** и LH су се првенствено изоловали из урина жена у менопаузи.
- Менотропин (хумани менопаузални гонадотропин) је екстракт обогаћен FSH, који се добија из хуманог урина.
 - Садржи променљив ниво LH, као и разних других протеина који су присутни у урину.
 - За производњу једне дозе (75 IU, \approx 7,5 mg) хуманог FSH (hFSH) потребно је 2,5 L урина.

Гонадотропини

-клиничка примена

- hCG има сличне биолошке ефекте као hLH и излучује се у урину трудница. Као алтернатива за hLH, hCG изолован из урина трудница се клинички примењује код људи.



Схематски приказ изоловања hCG из урина трудница

Гонадотропини

-клиничка примена

- Менотропини и hCG се користе за:
 - лечење ановулаторне неплодности, која настаје као последица недовољне производње ендогених гонадотропина;
 - стимулацију сазревања фоликула (менотропин уз накнадну примену hCG који подстиче овулацију и формирање жутог тела, како би се омогућила фертилизација).
- Адекватним дозирањем треба да се омогући да серумске концентрације гонадотропина буду приближне физиолошким концентрацијама гонадотропина током репродуктивног циклуса жена. Оптималне дозе се постижу праћењем концентрације естрогена у крви или фоликула ултразвуком.
- Услед превисоке дозе може настати више фоликула, што може довести до вишеплодне трудноће.

Гонадотропини

-клиничка примена

- Третман најчешће подразумева:
 - дневну *i.m.* примену гонадотропина ≥ 12 дана, праћену једном дозом hCG или
 - примену три веће дозе менотропина, праћене једном дозом hCG 1 - 2 дана након последње дозе менотропина.
- Гонадотропини се користе и у поступцима потпомогнуте репродукције. Примењене терапијске дозе FSH превазилазе потребе фоликула за FSH, чиме се стимулише раст већег броја фоликула доступних за *in vitro* фертилизацију.

Гонадотропини

-клиничка примена

- FSH и hCG се примењују за лечење мушке субфертилности и сродних стања:
 - за стимулацију сперматогенезе и физиолошке сексуалне функције код мушкараца који имају хипогонадотрофни хипогонадизам.
- hCG има ограничену примену у лечењу препуберталног крипторхизма (стање окарактерисано немогућношћу тестиса да се из абдомена потпуно спусти у скротум).
- Узимајући у обзир да овај хормон подстиче производњу тестостерона, његова злоупотреба код спортиста је веома честа (допинг средство).

Гонадотропини

-рекомбинантни препарати

- Гени или комплементарна ДНК који кодирају синтезу гонадотропина, експримирају се у различитим рекомбинантним системима домаћина, посебно ћелијским линијама сисара.
- rhFSH фолитропин бета (*Puregon*®) и фолитропин алфа (*Bemfola*®, *Gonal-f*®) се производе у CHO ћелијама:
 - добро се подносе, нису имуногени,
 - не изазивају неочекиване нежељене ефекте,
 - полуживот у плазми је сличан природном хормону.
- Аминокиселинска секвенца је идентична хуманој, али се састав угљенохидратног дела незнатно разликује.
- rhFSH је ефикасан у стимулацији раста фоликула код жена које болују од хипогонадотропног хипогонадизма и ефикасан је у лечењу мушкараца са сличним стањима.

Гонадотропини

-рекомбинантни препарати

- Хориогонадотропин алфа (*Ovitrelle*[®], *Ovidrel*[®]) је rhCG, одобрен за клиничку употребу 2001. године.
- Индикуван је за лечење инфертилитета код жена, насталог због ановулације, и оних које су подвргнуте потпомогнутој репродукцији (вантелесна оплодња - ВТО). Користи се за покретање коначног сазревања и лутеинизације фоликула након стимулације.
- Гликопротеинске је природе, има идентичну аминокиселинску секвенцу и сличну гликозилацију као нативни hCG.
- Производи се у инжењерисаној CHO ћелијској линији и пречишћава из медијума ћелијске културе вишестепеном хроматографијом, ултрафилтрацијом и нанофилтрацијом.

Гонадотропини

-рекомбинантни препарати

- Финални производ садржи манитол, метионин, *Poloxamer* 188, натријум хидроксид и орто-фосфорну киселину као ексципијенсе, а доступан је у бочицама или у шприцевима за једнократну употребу.
- Примењује се s.c., максималну концентрацију у серуму достиже након 12 - 24 h, а време полуетиминације износи око 29 h. Биорасположивост је око 40%.
- Озбиљна нежељена дејства су:
 - прекомерна стимулација јајника и
 - компликације у плућима и КВС-у.

Конвенционални препарати гонадотропина

- одобрени за клиничку употребу у Р. Србији

Генерички назив	Заштићен назив	Експресиони систем	Индикација	Формулација
Менотрофин (смеша хормона LH и FSH)	<i>Menopur</i> <i>Meriofert</i>	Урин пост-менопаузалних жена	Индукција овулације	Прашак и растварач за раствор за инј.
Урофолитропин	<i>Fostimon</i>	Урин	Женска и мушка инфертилност	Прашак и растварач за раствор за инј.

Рекомбинантни препарати гонадотропина

-одобрени за клиничку употребу у Р. Србији

Генерички назив	Заштићен назив	Експресиони систем	Индикација	Формулација
Фолитропин алфа-рекомбинантни хумани FSH	<i>Gonal</i> <i>Bemfol</i>	CHO	Жене: Ановулација Мушкарци: Хипогонадотропни хипогонадизам	Прашак и растварач за раствор за инј. Раствор за инј. (пен са улошком)
Фолитропин бета-рекомбинантни хумани FSH	<i>Puregon</i>	CHO	Жене: Ановулација Мушкарци: Хипогонадотропни хипогонадизам	Раствор за инј. (уложак)
Лутропин алфа-рекомбинантни хумани LH	<i>Luveris</i>	CHO	Стимулација развоја фоликула код жена са дефицитом LH и FSH	Прашак за раствор за инј.
Хоригонадотропин алфа	<i>Ovitrelle</i>	CHO	Сазревање фоликула и лутеинизација након асистираних репродукције	Раствор за инј.

Рекомбинантни препарати гонадотропина

- одобрени за клиничку употребу у Р. Србији

Генерички назив	Заштићен назив	Експресиони систем	Индикација	Формулација
Корифолитропин алфа	<i>Elonva</i>	CHO	Контролисана стимулација оваријума код ВТО	Раствор за инј. (шприц)
Фолитропин алфа + лутропин алфа	<i>Pergoveris</i>	CHO	Стимулација развоја фоликула код жена са тешким дефицитом LH и FSH	Прашак и растварач за раствор за инј. Раствор за инј. (пен)
Фолитропин делта	<i>Rekovelle</i>	Хумана ћелијска линија (PER. C6®)	Контролисана стимулација оваријума код ВТО	Раствор за инј. (пен)

Тиреостимулишући хормон

-биохемија

- Тиреостимулишући хормон (TSH, тиреотропин) се према структури класификује као члан фамилије гонадотропина, иако своју функцију испољава делујући на штитасту жлезду.
- TSH је хетеродимерни гликопротеин састављен од:
 - заједничке α -подјединице и
 - јединствене β -подјединице.
 - β -подјединица има мању хомологију у односу на остале чланове из групе. Састоји се од 118 аминокиселина, посебно је богата цистеином и садржи једно место за N-гликозилацију (Asn 23).
- TSH синтетишу различити типови ћелија хипофизе - тиреотрофи.
 - Његова синтеза и ослобађање су регулисани деловањем тиреотропин-ослобађајућег хормона (TRH).

Тиреостимулишући хормон *-рецептор*

- TSH се везује за специфичне рецепторе који се налазе на површини ћелија штитасте жлезде, при чему се активира аденилат циклаза, што повећава ниво интрацелуларног cAMP.
- На овај начин се покрећу карактеристични ефекти TSH на функцију штитасте жлезде:
 - преузимање јода из крви,
 - синтеза тиреоидних хормона (тироксин (T4) и тријодтиронин (T3)) и
 - ослобађање тиреоидних хормона у крв
- Повећани нивои T4 и T3 у плазми механизмом негативне повратне спреге смањују синтезу и ослобађање TSH.

Тиреостимулишући хормон

-производња и медицинска примена

- TSH се користи у дијагностичке сврхе за откривање карцинома штитасте жлезде и остатака штитасте жлезде након тиреоидектомије.
- Тиреотропин алфа је рекомбинантни TSH (*Thyrogen*[®]), производи се у CHO ћелијским линијама са плазмидима који садрже ДНК секвенце које кодирају настанак α - и β -TSH подјединица.
- Ћелије се узгајају у биореакторима за анималне ћелије. Након изоловања и концентрисања (ултрафилтрација), TSH се хроматографски пречишћава и формулише у концентрацији 0,9 mg/ml у фосфатном пуферу.
- Формулација садржи манитол и натријум хлорид као ексципијенсе. Након стерилне филтрације и асептичног пуњења у стаклене бочице, производ се суши смрзавањем. Финални производ има рок трајања 3 године када се чува на температури 2 - 8 °C.

Рекомбинантни тиреостимулишући хормон

- одобрен за клиничку употребу у Р. Србији

Генерички назив	Заштићен назив	Експресиони систем	Индикација	Формулација
Тиротропин алфа	<i>Thyrogen</i>	СНО	У дијагностичке сврхе, одређивање серумског тиреоглобулина	Прашак за раствор за инј. (шприц) <i>i.m.</i>

Паратиреоидни хормон

-биохемија

- Хумани паратиреоидни хормон (hPTH) је полипептид састављен од 84 аминокиселине, а прве 34 N-терминалне АК су најважније за испољавање биолошке активности.
- Главна функција паратиреоидног хормона је регулација метаболизма калцијума и фосфата у костима.
 - Стимулише стварање костију од стране остеобласта, који на својој површини имају рецепторе за овај хормон.
 - Повећава интестиналну апсорпцију калцијума.

Паратиреоидни хормон

-производња и медицинска примена

- Краћи облик РТН терипаратид је одобрен за лечење остеопорозе код жена у постменопаузи.
- Овај полипептид молекулске масе 4 kDa има идентичну N-терминалну секвенцу (1 – 34) као ендогени hPTH, везује се за нативни РТН рецептор и изазива исте ефекте.
- Производи се у *E. coli*, формулише као стерилан раствор и садржи 250 µg/ml активне супстанце.
- Примена терипаратида повећава минералну густину костију и смањује ризик од фрактура код пацијенткиња са постменопаузалном остеопорозом. Примењује се s.c. током неколико месеци у дози од 20 µg дневно.

Рекомбинантни паратиреоидни хормон

- одобрен за клиничку употребу у Р. Србији

Генерички назив	Заштићен назив	Експресиони систем	Индикација	Формулација
Терипаратид	<i>Movymia</i> <i>Tetrida</i> <i>Terrosa</i>	<i>E. coli</i>	Терапија постменопаузалне остеопорозе	Раствор за инј. (пен са улошком) Раствор за инј. (уложак) Раствор за инј. (уложак)

Калцитонин

-биохемија

- Калцитонин је једноланчани полипептид састављен од 32 аминокиселине, молекулске масе 3500 Da.
- Калцитонин:
 - регулише ниво јонизованог калцијума и неорганског фосфата у серуму (заједно са PTH и дериватом витамина Д, 1,25-дихидроксихолекалциферолом),
 - снижава ниво Ca^{2+} и фосфата у серуму, тако што инхибира процес ресорпције костију и смањује ресорпцију Ca^{2+} и фосфата у бубрезима.
- Калцитонински рецептори се доминантно налазе на ћелијама костију (остеокласти) и бубрежним ћелијама, а сигнална трансдукција подразумева активацију аденилат-циклазе и последично стварање cAMP
- Калцитонин се синтетише специјализованим парафоликуларним ћелијама штитасте жлезде.

Калцитонин

-производња и медицинска примена

- Калцитонин се примењује за лечење хиперкалцемије повезане са неким облицима малигнитета, Пагетове болести и постменопаузалне остеопорозе.
- Калцитонин изолован из лососа се разликује од хуманог у девет аминокиселинских остатака.
 - Ова разлика га чини око 100 x потентнијим од хуманог хормона.
- Већа потентност се објашњава већим афинитетом за рецепторе и већом отпорношћу на *in vivo* деградацију. Због тога се у клиничкој пракси користи калцитонин изолован из лососа.
- Miacalcic® је произведен на овај начин, и био је регистрован за примену у Србији у облику назалног спреја и раствора за инјекцију/инфузију до 2013. када је повучен са тржишта услед повећаног ризика од малигнитета при хроничној употреби.

Калцитонин

-производња и медицинска примена

- Рекомбинантни калцитонин се производи у *E. coli*.
 - С-терминус калцитонина је амидован, С-терминална амидо група (- CONH₂) је заменила уобичајену карбоксилну групу, карактеристичну за многе полипептидне хормоне.
 - Амидо група је одговорна за постизање пуне биолошке активности и стабилности.
- С обзиром да *E. coli* не може извршити посттранслационе модификације, амидација рекомбинантног калцитонина се спроводи *in vitro* употребом ензима за α-амидацију (пептидил-глицин амидаза), који је такође произведен рекомбинантном ДНК технологијом у СНО ћелијској линији.
- Пречишћени, амидовани финални производ се формулише у облику раствора у ацетатном пуферу и пуни у стаклене ампуле. Има рок трајања две године када се чува на 2 – 8 °С.

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Хвала на пажњи