

**Studium Kształcenia Podyplomowego
Wydziału Farmaceutycznego
Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum**

PRACA SPECJALIZACYJNA

„Przeciwciała terapeutyczne- otrzymywanie, rodzaje i zastosowanie w lecznictwie”

*Zacząło się od pełnego fantazji porównania przeciwciał do
„magicznego pocisku zdolnego wypędzić diabła choroby”,
a skończyło na symbolu nowej ery w naukach medycznych*

Dr hab. n. hum. Ryszard W. Gryglewski , prof. UJ

dr n. farm. Anna Godawska-Matysik

Kierownik specjalizacji mgr farm. Adriana Chromy-Czoniszwili
specjalista farmacji szpitalnej
specjalista farmacji aptecznej

Kraków, 2021r

Spis treści:

1. Wstęp.

- 1.1. Historia odkrycia przeciwciał monoklonalnych
- 1.2. Budowa i funkcja przeciwciał
- 1.3. Metody otrzymywania przeciwciał monoklonalnych
- 1.4. Rodzaje przeciwciał monoklonalnych
- 1.5. Nazewnictwo przeciwciał monoklonalnych
- 1.6. Mechanizm działania przeciwciał

2. Przegląd przeciwciał monoklonalnych

- 2.1. Przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi CD52
- 2.2. Przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi CD25
- 2.3. Przeciwciała skierowane przeciwko antygenom CD19/CD3
- 2.4. Przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi CD20
- 2.5. Przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi CD30
- 2.6. Przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi CD38
- 2.7. Przeciwciała skierowane przeciwko receptorowi CD279/PD-1
- 2.8. Przeciwciała skierowane przeciwko białku CD274/PDL-1
- 2.9. Przeciwciała skierowane przeciwko białku CTLA4/CD152
- 2.10. Przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi GD2
- 2.11. Przeciwciała skierowane przeciwko receptorowi HER 2
- 2.12. Przeciwciała skierowane przeciwko receptorowi EGRF
- 2.13. Przeciwciała skierowane przeciwko cytokinie THF-alfa
- 2.14. Przeciwciała skierowane przeciwko Interleukinie-6
- 2.15. Przeciwciała skierowane przeciwko receptorowi dla Interleukiny-6
- 2.16. Przeciwciała skierowane przeciwko Interleukinie-1
- 2.17. Przeciwciała skierowane przeciwko białku VEGF
- 2.18. Przeciwciała skierowane przeciwko IgE
- 2.19. Przeciwciała skierowane przeciwko α 4 integrynie
- 2.20. Przeciwciała skierowane przeciwko białku dopełniacza C5
- 2.21. Przeciwciała skierowane przeciwko podjednostce P40 Interleukiny-12 i Interleukiny-
- 2.22. Przeciwciała skierowane przeciwko RANKL
- 2.23. Przeciwciała skierowane przeciwko BAFF
- 2.24. Przeciwciała skierowane przeciwko toksynie pałeczek wąglika
- 2.25. Przeciwciała skierowane przeciwko PCSK9
- 2.26. Przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi SLAMF7/CD319
- 2.27. Przeciwciała skierowane przeciwko Interleukinie-5
- 2.28. Przeciwciała skierowane przeciwko Interleukinie-17
- 2.29. Przeciwciała skierowane przeciwko Clostridium
- 2.30. Przeciwciała skierowane przeciwko PDGFR

3. Podsumowanie

4. Literatura

1. Wstęp.

Przeciwciała terapeutyczne, to przeciwciała które znalazły zastosowanie w medycynie, zarówno w leczeniu jak i diagnostyce. Początki stosowania przeciwciał w medycynie według historyków stanowią moment narodzin immunochemii. Przeciwciała terapeutyczne można podzielić na dwie grupy: przeciwciała monoklonalne i poliklonalne. Podział polega na ich pochodzeniu oraz specyficzności. Przeciwciała monoklonalne wywodzą się od jednego klonu limfocytów B, stąd przedrostek mono- i charakteryzują się wysoką specyficznością względem jednego epitopu antygeny. Natomiast przeciwciała poliklonalne są mieszaniną przeciwciał, rozpoznają wiele epitopów i reagują krzyżowo z antygenami o podobnej strukturze.

W pracy tej skupię się na przeciwciałach monoklonalnych, które obecnie mają coraz szersze zastosowanie w leczeniu.

1.1. Historia odkrycia przeciwciał monoklonalnych.

Historia stworzenia przeciwciał monoklonalnych rozpoczyna się od badań nad naturalnie występującymi przeciwciałami i sposobami ich zastosowania w leczeniu ludzi. W roku 1890 niemiecki badacz Emil von Behring, wraz ze swoim japońskim asystentem Kitasato Shibasaburō opracowali pierwszą surowicę przeciwbłoniczą i w rok później wykazali jej skuteczność w leczeniu ludzi. Było to pierwsze skuteczne zastosowanie przeciwciał otrzymanych w sposób naturalny w leczeniu ludzi [1]. Następną była surowica przeciw tężcowi.

W tym samym czasie inny niemiecki badacz Paul Ehrlich stworzył teorię łańcuchów bocznych, mającą wyjaśnić różnorodne zjawiska immunologiczne. Jego teoria opierała się na modyfikacji sposobu, w jaki uważano, że komórka wchłania i przyswaja składniki odżywcze. Ehrlich postulował, że każda komórka ma na swojej powierzchni szereg łańcuchów bocznych (stąd nazwa) lub receptorów, które działają poprzez przyłączanie określonych cząsteczek pokarmu. Każdy łańcuch boczny oddziałuje z określonym składnikiem odżywczym - w taki sposób, jak klucz pasuje do zamka - może on jednak również oddziaływać z innymi cząsteczkami, takimi jak np. toksyny wywołujące chorobę, wytwarzane przez patogen. Kiedy toksyna wiąże się z łańcuchem bocznym, interakcja jest nieodwracalna i blokuje późniejsze wiązanie i pobieranie składników odżywczych. W następstwie tego organizm próbuje pokonać przeszkodę ograniczającą mu funkcjonowanie, wytwarzając dużą liczbę zastępczych łańcuchów bocznych - tak wiele, że nie mieszczą się one na powierzchni komórki i zamiast tego są wydzielane do krążenia. Zgodnie z teorią Ehrlicha, te krążące łańcuchy boczne są przeciwciałami, które są skierowane i zdolne do neutralizacji toksyn powodujących chorobę. Część z nich pozostaje w krwiobiegu, uodparniając w ten sposób osobę na kolejne inwazje czynnika zakaźnego [2]. Teoria ta pomimo błędów odegrała istotną rolę w procesie poznawania mechanizmów odpornościowych człowieka.

Dopiero w latach 20 XX wieku prace amerykańskich badaczy Michaela Heidelbergera i Oswalda Avery'ego dały szerszą wiedzę o biochemicznej strukturze przeciwciał. Uczni Ci doświadczalnie potwierdzili wówczas zjawisko precypitacji antygenów pod wpływem przeciwciał oraz udowodnili, że przeciwciała są w istocie białkami. W 1936 roku, austriacki lekarz, który zdobył sławę jako współodkrywca grup krwi, Karl Landsteiner zaobserwował, iż przeciwciała mają cechę ścisłego dopasowania się do antygenów. Natomiast w 1939 r. Elvin Abraham Kabat dowiódł, że zjawiska immunoprecypitacji, aglutynacji oraz działanie antytoksyczne są zależne od substancji o tych samych podstawowych właściwościach. W ten sposób stworzono podstawy dla nowoczesnej immunochemii.

Kolejny istotny krok w poznaniu istoty przeciwciał poczynił Niels Jerne, który spojrzął na zjawisko odporności jako na logicznie zaprogramowany system reakcji na obce antygeny. Reakcji przejawiającej się właściwym i selektywnym doбором przeciwciał spośród ogólnej puli wytwarzanych przez nasz organizm. Jerne twierdził, że reakcje immunologiczne, jakkolwiek noszące cechy automatyzmu, nie są jednak przypadkowe, lecz mają wyraźnie charakter procesów celowych. Inspirując się teorią Jerne australijski immunolog Frank Macfarlane-Burnet opracował

nowy model, tzw. teorię selekcji klonalnej, dzięki której można było wyjaśnić podstawy mechanizmu reakcji immunologicznej. W roku 1948 Astrid Fagraeus wykazała, że przeciwciała są produkowane przez limfocyty B.

Nadal jednak kwestią otwartą pozostawało pytanie o przyczynę istnienia tak dużej liczby wariantów przeciwciał. Wiadomo było od dawna, że dla każdego niemal patogenu istnieją specyficzne przeciwciała. Rozwój genetyki spowodował, iż uczeni zdali sobie sprawę z faktu, że wariantów przeciwciał jest więcej niż genów w organizmie, co według definicji genów i białek nie mogło mieć miejsca. Kwestię tą rozwiązały prace japońskiego uczonego Susumu Tonegawy, który opisał charakter genetycznego podłoża przeciwciał.

Pierwsza publikacja, w której opisano sposób produkcji przeciwciał monoklonalnych, czyli pochodzących od jednej (mono) komórki (klon) ukazała się w 1973r. [3]. Jerrold Schwaber i Edward Cohen, jej autorzy, przedstawili proces produkcji przeciwciał monoklonalnych w komórkach hybrydowych, powstałych z połączenia ludzkich limfocytów krwi obwodowej i mysiej linii komórek nowotworowych szpiczaka.

Podstawy do metodyki wytwarzania syntetycznych przeciwciał opracowali Cesar Milstein oraz Georges Köhler. Zajmowali się oni zjawiskiem odporności i starali się odpowiedzieć na jedno z fundamentalnych pytań ówczesnej immunologii: „W jaki właściwie sposób kształtują się przeciwciała?”

Aby zrozumieć na czym polega proces wytwarzania przeciwciał monoklonalnych, należy pokrótce omówić jak naturalnie wytwarzane są przeciwciała przez zwierzęta. Przeciwciała są białkami syntezowanymi w odpowiedzi na pojawienie się w ustroju „obcych substancji”. Jeśli do organizmu zwierzęcego zostanie wprowadzona obca substancja (antygen), limfocyty B produkują przeciwciała rozpoznające obcą makrocząsteczkę. Dochodzi do stymulacji komórek B i tym samym wytwarzania i sekrecji przeciwciał. Należy zaznaczyć, że swoiste powinowactwo przeciwciała nie dotyczy całej makrocząsteczki antygeny, ale pewnego jego miejsca, zwanego determinantą antygenową lub epitopem. Każdy aktywowany przez antygen limfocyt B, tworzy klony komórek w śledzionie oraz w węzłach chłonnych, przy czym komórka z danego klonu produkuje jeden ściśle określony typ przeciwciała (monoklonalnego). Zazwyczaj reakcja odpornościowa organizmu na antygen ma charakter niejednorodny, w skutek czego różne rodzaje limfocytów B produkują przeciwciała wykazujące powinowactwo do tego samego antygeny. W konsekwencji, w surowicy organizmu, w którym wystąpiła dana reakcja odpornościowa, znajdą się liczne klony immunoglobulin specyficznych dla jednego antygeny, mogących potencjalnie należeć do różnych klas immunoglobulin (na przykład: IgA, IgG, IgM). Z reguły stanowią one około 2 do 5% wszystkich obecnych tam przeciwciał. Jeżeli z takiej próbki zostaną wyizolowane przeciwciała, to w związku z ich niejednorodnym charakterem, będą one miały charakter poliklonalny. Izolowanie immunoglobulin bezpośrednio z serum jest główną metodą otrzymywania przeciwciał poliklonalnych, użytecznych na przykład w testach immunologicznych.

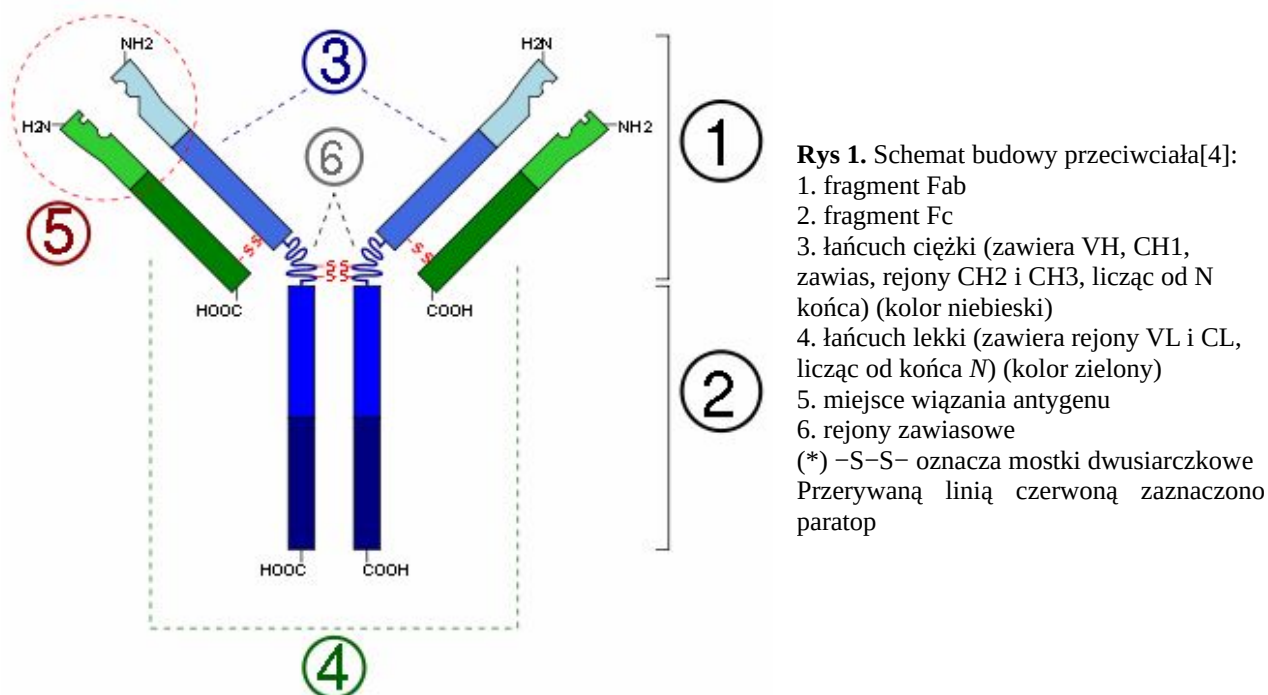
W 1975 r Cesar Milstein oraz Georges Köhler opisali technologię produkcji przeciwciał monoklonalnych, która uważana jest obecnie za wynalazek przełomowy w historii medycyny oraz nauk biologicznych. Technologia ta polega na fuzji komórek śledziony z komórkami szpiczaka mnogiego i stworzeniu hybrydomy. Indywidualny limfocyt B produkuje tylko jeden specyficzny rodzaj przeciwciała o ściśle określonym powinowactwie do jednego wybranego antygeny. Możliwe jest, poprzez sklonowanie takiej pojedynczej komórki wyprodukowanie przeciwciał pochodzących od jednej komórki czyli, monoklonalnych. Pierwsza opracowana metoda produkcji przeciwciał monoklonalnych, autorstwa Milsteina i Köhlera, dotyczyła immunoglobulin pochodzących od myszy.

1.2. Budowa i funkcja przeciwciał.

Przeciwciała są białkami. W organizmie wytwarzane są w obwodowych narządach limfatycznych przez komórki B (limfocyty B). Mogą występować we krwi oraz w wydzielinach

błon śluzowych i stąd migrować do każdego miejsca zakażenia. Przeciwciała ochronne powstają podczas odpowiedzi pierwotnej, a niektóre wytwarzające je komórki B migrują do szpiku kostnego, gdzie przez miesiące lub lata uwalniają ich niewielkie ilości. Te stale produkowane przeciwciała są dostępne natychmiast, gdy patogen próbuje zaatakować organizm gospodarza. Inne produkujące przeciwciała komórki B po zakończeniu odpowiedzi pierwotnej różnicują się do komórek pamięci, które nie uwalniają przeciwciał, a czekają na pojawienie się antygeny w organizmie. Po ponownym pojawieniu się antygeny w organizmie odpowiadają one za uruchomienie odpowiedzi wtórnej. Polega ona na gwałtownym różnicowaniu się komórek pamięci do komórek produkujących przeciwciała. Powstają one w dużej ilości i skutecznie chronią organizm przed patogenem.

Przeciwciała zbudowane są z czterech łańcuchów polipeptydowych (Rys. 1): dwóch lekkich (L, z ang. light) oraz dwóch ciężkich (H, z ang. heavy).



Każdy łańcuch lekki jest kowalencyjnie połączony z łańcuchem ciężkim wiązaniami dwusiarczkowymi. Wyodrębnia się dwa warianty łańcuchów lekkich: typ κ (kappa) i typ λ (lambda), które są kodowane przez odrębne geny i różnią się sekwencją aminokwasów w regionach, które nie uczestniczą w wiązaniu antygenów. Istnieje również pięć różnych typów łańcuchów ciężkich: α (alfa), δ (delta), ϵ (epsilon), γ (gamma) oraz μ (mi). W zależności od typu łańcucha ciężkiego występującego w przeciwciele wyróżnia się pięć klas immunoglobulin: IgA, IgD, IgE, IgG oraz IgM. Ponadto, w zależności od drobnych różnic w budowie łańcuchów ciężkich w obrębie tej samej klasy wyodrębnia się podklasy przeciwciał, na przykład: IgA1 i IgA2 lub IgG1, IgG2, IgG3 i IgG4. IgD, IgE oraz IgM występują tylko w jednej klasie. Niektóre przeciwciała mogą występować w postaci monomerycznej (dwa łańcuchy ciężkie oraz dwa lekkie), bądź w polimerycznej (kilka przeciwciał połączonych w duży kompleks poprzez dodatkowy łańcuch łączący J). Przeciwciała IgM mogą występować jako pentamery lub heksamery, natomiast IgA w wydzielinach śluzowo-surowiczych jest przeważnie dimerem lub tetramerem.

W łańcuchach lekkich i ciężkich przeciwciała można wyróżnić części stałe (C, *ang. constant*) oraz części zmienne (V, *ang. variable*). Części zmienne jednego łańcucha ciężkiego oraz jednego łańcucha lekkiego tworzą tak zwany fragment wiążący antygen (Fab, *ang. fragment antigen binding*). Każde monomeryczne przeciwciało ma dwa fragmenty Fab i w związku z tym może wiązać jednocześnie dwa antygeny. Część fragmentu Fab, która bezpośrednio kontaktuje się z antygenem nazywa się paratopem (na rysunku 1 zaznaczony czerwoną przerywaną linią). Paratop

jest przestrzennie dopasowany do determinanty antygenowej, czyli epitopu. Znacznie większy fragment przeciwciała, nie uczestniczący w wiązaniu antygeny, to tak zwany fragment Fc. Specyficzność w wiązaniu antygeny wynika z konformacji przestrzennej regionów zmiennych łańcuchów ciężkich i lekkich. Konfiguracja przestrzenna natomiast jest rezultatem sekwencji aminokwasów w tych częściach łańcuchów. Części zmienne wchodzące w skład fragmentu Fab przeciwciała są różne dla przeciwciał wiążących różne epitopy, części stałe natomiast są identyczne dla wszystkich przeciwciał danej klasy, ewentualnie podklasy.

Należy w tym miejscu dodać, że jeden antygen może mieć wiele epitopów (identycznych lub zupełnie odmiennych) i w związku z tym może być wiązany przez więcej niż jedno przeciwciało. Niemniej istnieją również antygeny jednoepitopowe (zazwyczaj bardzo małe). Istnieją również tak zwane przeciwciała wielospecyficzne (polispecyficzne, polireaktywne). Mogą one wiązać więcej niż jeden antygen, choć zazwyczaj antygeny te są do siebie bardzo zbliżone strukturalnie. Większość wielospecyficznych przeciwciał należy do klasy IgM.

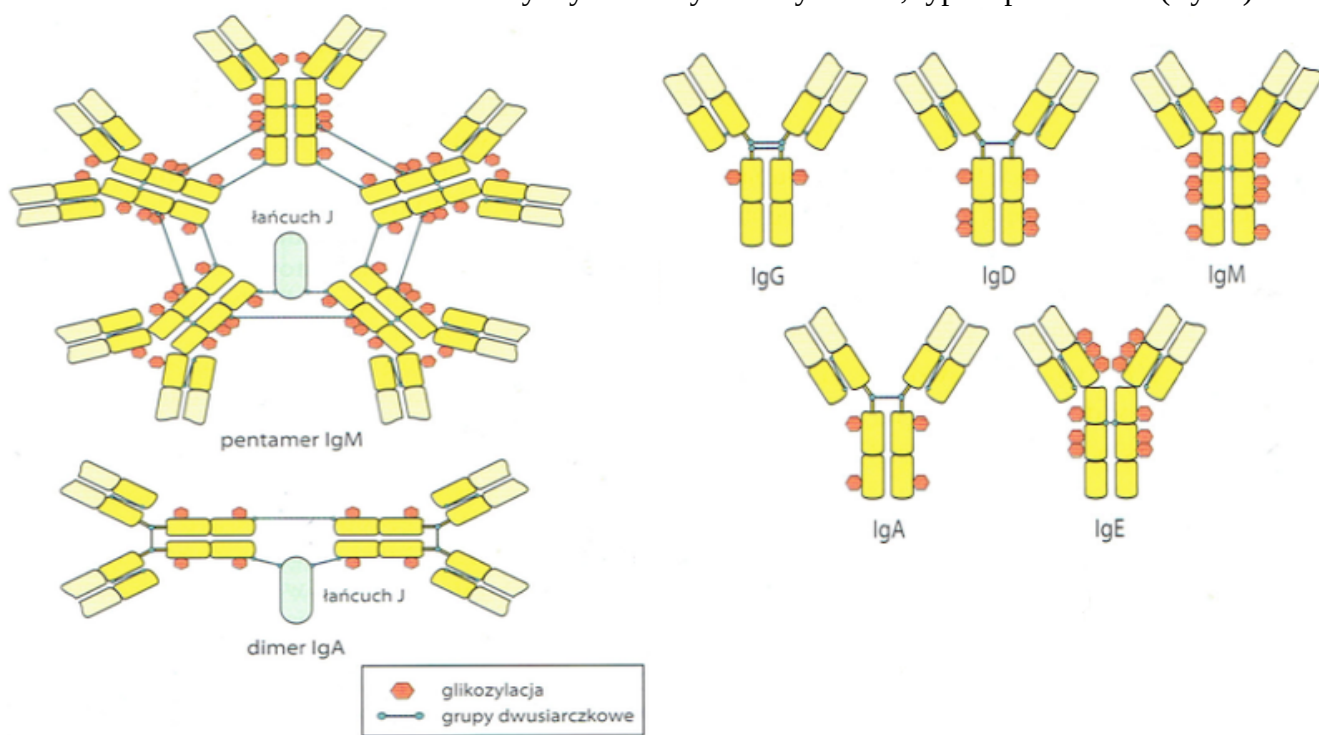
W obrębie części zmiennej każdego łańcucha wyodrębnia się 3 regiony hiperzmiennie i przylegające do nich 4 regiony zrębowe - FR (*ang. frame regions*). Regiony te określają specyficzność danego przeciwciała i to one właśnie tworzą paratop. Niekiedy określane są one jako regiony determinujące dopasowanie – CDR (*ang. complementarity determining regions*). Są to tak zwane "gorące" miejsca (*ang. hot spots*) immunoglobulin. Możliwe jest związanie dwóch różnych, bardzo małych epitopów przez jedno miejsce wiążące antygen przeciwciała. Bardzo małe antygeny mogą być całkowicie lub częściowo zagłębione we fragmencie Fab przeciwciała. W większości wypadków jednak powierzchnia kontaktu antygeny z przeciwciałem jest rozciągnięta i bardziej płaska, choć zawiera liczne pofałdowania.

Charakterystyczne dla przeciwciał jest występowanie powtarzających się sekwencji aminokwasowych określanych jako domeny immunoglobulinowe. Obejmują one 100-110 aminokwasów spiętych mostkami dwusiarczkowymi. W obrębie łańcuchów lekkich wyróżniamy dwie takie domeny. Części stałe łańcuchów ciężkich w IgA, IgG i IgD zawierają natomiast po 3 domeny, a w IgE i IgM po cztery domeny. N-końcowa domena łańcuchów lekkich i ciężkich (tworząca fragment Fab) określana jest jako domena V (*ang. variable*), ponieważ jest zmienna, w zależności od specyficzności przeciwciała. W związku z tym fragment Fab odpowiada za specyficzność przeciwciała. Pozostałe domeny immunoglobulinowe są niezmiennie i są określane jako domeny C (*ang. constant*). Budują one fragmentu Fc przeciwciała, który pełni funkcję efektorową immunoglobuliny, czyli odpowiada za różne zjawiska zapoczątkowywane związaniem antygeny, m. in. za przekazanie sygnału komórkom efektorowym układu odpornościowego.

Domeny immunoglobulinowe są charakterystycznym elementem strukturalnym wielu białek nie tylko przeciwciał, szczególnie tych, które znajdują się w błonie komórkowej. Dotychczas poznano kilkaset białek mających takie domeny i określane są one wspólnie jako białka (cząsteczki) immunoglobulinopodobne.

Wszystkie przeciwciała zawierają przyłączone łańcuchy cukrowe. Każdy z łańcuchów ciężkich ma jedno zachowane w ewolucji miejsce N-glikozylacji przy asparaginie 297, zlokalizowane w regionie zawiasowym cząsteczki. Glikozylacji podlega również fragment Fab w 15-25% cząsteczek. Obecność reszt cukrowych zapewnia właściwą konformację cząsteczki, natomiast skład monosacharydowy N-glikanu może zmieniać funkcje efektorowe przeciwciał poprzez wpływ na wydajność wiązania immunoglobuliny do receptora na komórkach efektorowych. Obecność fukozy w rdzennej części N-glikanu Fc obniża wiązanie przeciwciał do receptora FcγRIIa aktywującego odpowiedź cytotoksyczną, defukozyłacja w znaczny sposób zwiększa efekt cytotoksyczności, sialilacja N-glikanu wywołuje efekt wyciszający zapalenie, a obecność agalaktozylowanych form immunoglobulin uznawana jest za jeden ze wskaźników toczącego się stanu zapalnego. Profil glikozylacji odzwierciedla efektorowe funkcje przeciwciał, w tym ich aktywność cytotoksyczną w procesie ADCC, dlatego modyfikacja składu cukrowego jest kluczowym kryterium przy projektowaniu przeciwciał terapeutycznych [5].

W organizmie ludzkim przeciwciała występują w dwóch postaciach: receptorów antygenowych związanych z błoną komórek B lub białek wydzielanych do krwi bądź przez błony śluzowe. Przeciwciała wydzielnicze stanowią podstawowe, rozpuszczalne cząsteczki efektorowe adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej, gdyż neutralizują i eliminują drobnoustroje chorobotwórcze. W zależności od budowy wyróżniamy 5 różnych klas, typów przeciwciał (Rys 2).

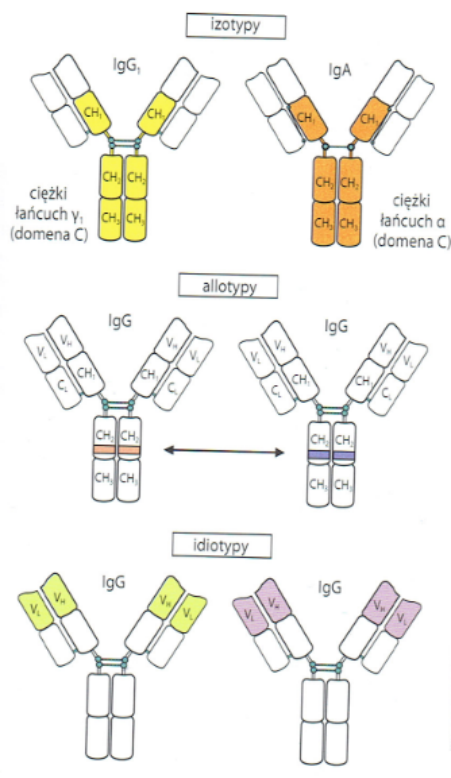


Rys. 2. Struktura klas ludzkich immunoglobulin [7]

Izotypy immunoglobulin różnią się rodzajem łańcucha ciężkiego, liczbą i umiejscowieniem mostków dwusiarczkowych oraz profilem glikozylacji. Immunoglobuliny IgM oraz IgE nie mają regionów zawiasowych, natomiast wykazują obecność dodatkowego regionu stałego w łańcuchu ciężkim. Wydzielnicze IgM i IgA tworzą pentamery lub dimery. Monomery tych przeciwciał połączone są wówczas ze sobą mostkami dwusiarczkowymi oraz tak zwanymi łańcuchami J.

Poszczególne przeciwciała możemy podzielić na różne izotypy, allotypy i idiotypy (Rys.3). Izotypy różnią się między sobą rodzajem łańcucha ciężkiego. Allotypy wykazują różnice regionów stałych łańcuchów ciężkich. Natomiast przeciwciała idiotypowe różnią się regionami zmiennymi, tzn. każde przeciwciało ma swoisty idiotyp. Biorąc pod uwagę ilość możliwych kombinacji można zauważyć istnienie ogromnej liczby różnorodnych przeciwciał.

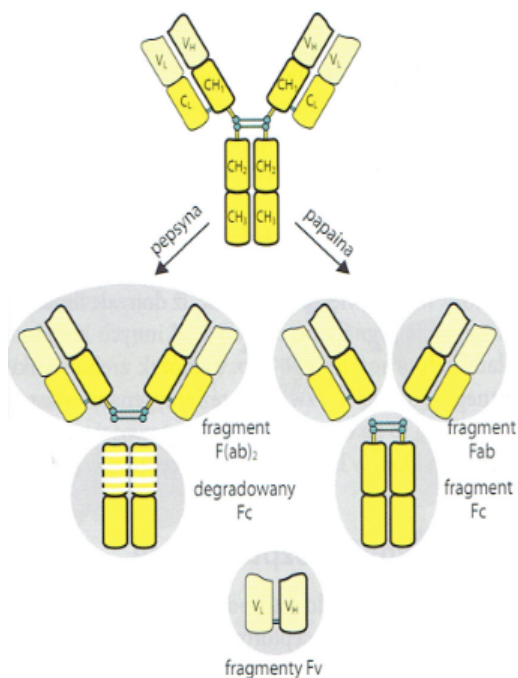
Z punktu widzenia możliwości zastosowania w leczeniu z uwagi na swoje właściwości i funkcje najlepsze właściwości posiadają przeciwciała klasy IgG. Charakteryzują one się wysoką specyficznością, długim okresem półtrwania w surowicy, a także dobrą tolerancją u pacjentów. Receptory dla ich fragmentu Fc występują na powierzchni wielu komórek układu odpornościowego (FcR). Dzięki tym receptorom komórki te, określane jako komórki K (*ang. killers*), są zdolne do zabicia komórek opłaszczonych przez IgG w wyniku cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał. Ponadto komórki fagocytyczne, takie jak neutrofile i makrofagi, dzięki obecności na ich powierzchni FcR, mogą fagocytować komórki i cząsteczki opłaszczone przeciwciałami. Proces ten nazywany jest immunofagocytozą. IgG mogą również aktywować układ dopełniacza. Ponadto IgG są jedynymi immunoglobulinami, których niedobór można uzupełnić w formie dożylniej lub podskórnej.



Rys. 3. Zróżnicowanie strukturalne przeciwciał [7]

W tabeli (Tab. 1) przedstawiono charakterystykę i właściwości każdej z podklas przeciwciał.

Przeciwciała terapeutyczne wykorzystywane w medycynie należą do klasy przeciwciała IgG. W lecznictwie wykorzystuje się zwykle całe przeciwciała. Pozwala to na zastosowanie dwóch wspólnych mechanizmów tzn. właściwości rozpoznawania określonego celu swoistego dla danego przeciwciała jak i możliwości aktywacji ludzkiego układu immunologicznego w celu zniszczenia patogenu. Istnieje jednak możliwość wykorzystania jedynie fragmentów przeciwciał. Wykorzystuje się zwykle fragment Fab, który odpowiada za swoistość przeciwciała. Redukuje się dzięki temu aktywację wewnątrzustrojowych układów immunologicznych. Rysunek 4 przedstawia metody otrzymywania fragmentów przeciwciał, które polegają na zastosowaniu enzymów rozcinających białka w specyficznych miejscach.



Rys 4. Fragmenty przeciwciała [7].

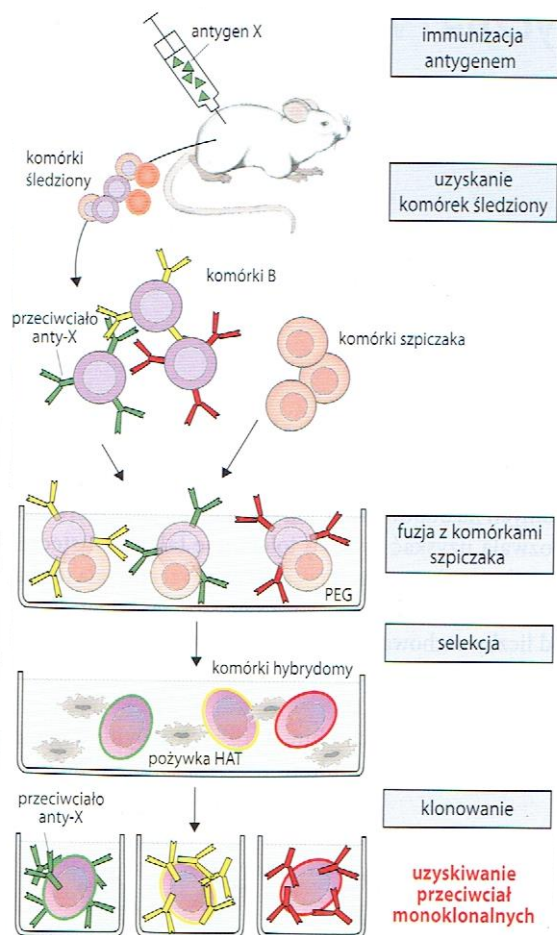
Pepsyna powoduje hydrolizę do fragmentu F(ab)₂, natomiast trawienie papainą powoduje powstania dwóch fragmentów Fab i jednego Fc. Na N-terminalnym końcu fragmentu Fab występują wysoce swoiste domeny rozpoznawcze dla antygeny (paratop). Fragmenty Fv tworzą jedynie regiony zmienne łańcuchów lekkich i ciężkich. Mogą one być wytwarzane dla celów terapeutycznych metodami inżynierii genetycznej.

Tab1. Właściwości poszczególnych klas immunoglobulin[6,7].

	IgA		IgD	IgE	IgG				IgM
WŁAŚCIWOŚCI									
Forma	monomer, dimer		monomer	monomer	monomer				pentamer
Cechy charakterystyczne	15-20% immunoglobulin		Mniej niż 1% wszystkich globulin	Brak regiony zawiasowego oraz cztery domeny CH	70-75% wszystkich immunoglobulin, podstawowa immunoglobulina				10% immunoglobulin, brak region zawiasowego, cztery domeny CH
T_{1/2}	5,8 dnia		2,8 dnia	2,5 dnia	23 dni				5,1 dnia
Podklasy	IgA1	IgA2	–	–	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	-
FUNKCJE									
Neutralizacja	++		–	–	++	++	++	++	+
Opsonizacja	+		–	–	+++	*	++	+	+
Podatność na zniszczenie przez komórki NK	–		–	–	++		++	–	–
Sensytyzacja komórek tłuszczowych	–		–	+++	+	–	+	–	–
Aktywacja układu dopełniacza	+		–	–	++	+	+++	–	+++
DYSTRYBUCJA									
Obecność na powierzchni komórek B	–		+	–	–	–	–	–	+
Transport przez nabłonek	+++ (dimer)		–	–	–	–	–	–	+
Transport przez łożysko	–		–	–	+++	+	++	+/-	–
Transport do mleka	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dyfuzja do przestrzeni pozanaczyniowej	++ (monomer)		–	+	+++	+++	+++	+++	+/-
* IgG2 w obecności receptora dla fragmentu Fc odpowiedniego allotypu pełni funkcję opsoniny									

1.3. Metody otrzymywania przeciwciał monoklonalnych.

Jak wcześniej wspomniano termin przeciwciała monoklonalne wywodzi się od słów „mono” oznacza jeden i „klonalne” od klonów, czyli jednakowych, identycznych kopii genetycznych oryginału. Tak więc przeciwciała monoklonalne to przeciwciała wywodzące się z jednej linii limfocytów B (z jednej komórki).



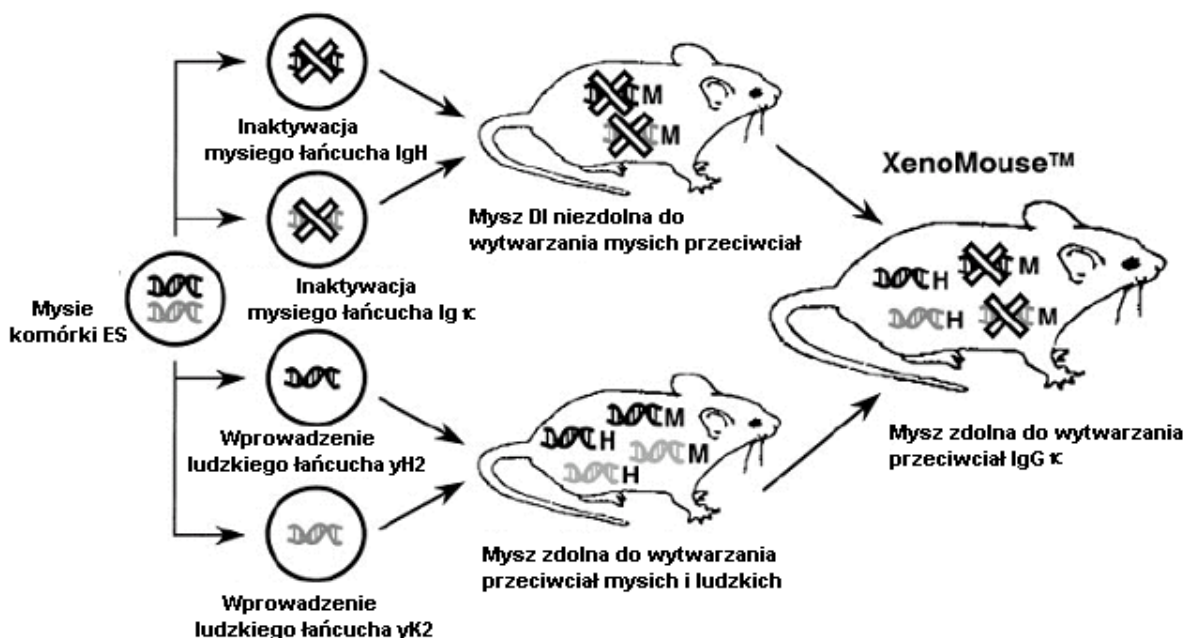
Rys 5. Technika hybrydomy produkcji przeciwciał monoklonalnych [7]

Pierwszym krokiem otrzymywania przeciwciał monoklonalnych jest immunizacja myszy i wybór myszy dawców do wytworzenia komórek hybrydomy (Rys. 5). Myszy immunizuje się antygenem, który jest przygotowany do iniekcji. Na ogół myszy immunizowane są co 2-3 tygodnie. Następnie po kilku tygodniach od immunizacji, we krwi myszy sprawdzany jest poziom przeciwciał. Miano przeciwciał w surowicy określane jest kilkoma różnymi technikami, takimi jak ELISA. Gdy miano przeciwciał jest duże, myszy uśmierca się i pobiera się ich śledziony, z których izoluje się pobudzone antygenem limfocyty B. Komórki śledziony z immunizowanych myszy poddaje się fuzji z wcześniej przygotowanymi komórkami szpiczaka. Fuzję uzyskuje się za pomocą techniki zwanej hybrydyzacją komórek somatycznych. W metodzie tej równocześnie odwirowywane są świeżo zebrane komórki śledziony i komórki szpiczaka w glikolu polietylenowym, który powoduje zlepianie (fuzję) ich błon komórkowych. Oprócz glikolu polietylenowego bardzo często wykorzystywana jest również izoleucyna. Nie wszystkie komórki ulegają fuzji: fuzja może też dotyczyć dwóch takich samych komórek (dwie komórki szpiczaka lub dwa limfocyty). Dlatego kolejnym etapem jest selekcja komórek hybrydomy w celu wyeliminowania komórek, które nie uległy fuzji bądź też uległy połączeniu się z taką samą komórką. Wykorzystywane są do tego specjalne, selektywne podłoża. W ich skład wchodzi

hipoksantyna, aminopteryna oraz tymidyna (HAT – ang. hypoxanthine-aminopterin-thymidine), które umożliwiają przeżycie wyłącznie utworzonym hybrydom. Hybrydomy rozdzielane są na specjalnych płytkach hodowlanych, tak by w jednym dołku znajdowała się pojedyncza komórka.

Klon komórek powstałych z namnożenia się pojedynczej komórki będzie zdolny do wytwarzania przeciwciał specyficznych względem konkretnego epitopu danego antygeny. Każdy otrzymany w ten sposób klon komórek poddaje się sprawdzeniu zarówno pod kątem możliwości produkcji przeciwciał, ich specyficzności, jak również zdolności do ciągłego wzrostu hybryd. W przypadku, gdy uzyskane hybrydomy nie są w stanie przystosować się do warunków *in vitro* lub immunoglobuliny nie spełniają wymagań, klony komórek wstrzykuje się do jamy otrzewnej myszy. Zabieg ten powoduje powstanie wodobrzusza, a gromadzący się w otrzewnej płynie zawiera wysokie stężenie przeciwciał monoklonalnych. Drugą metodą otrzymywania przeciwciał monoklonalnych jest wzrost komórek hybrydomy w pożywce do hodowli tkankowych.

Przeciwciała uzyskiwane klasyczną metodą hybrydomy są przeciwciałami mysimi o dużej immunogenności. Obecnie alternatywnym rozwiązaniem okazała się możliwość wykorzystywania myszy transgenicznych w klasycznej metodzie hybrydomy, w których geny kodujące przeciwciała zostały zastąpione sekwencjami genów ludzkich (Rys 6).



Rys. 6. Schemat otrzymywania myszy transgenicznych wytwarzających ludzkie przeciwciała

Takie myszy wytwarzają ludzkie przeciwciała w sposób bezpośredni. Jak dotąd trzy firmy stworzyły myszy transgeniczne określone jako XenoMouse[®], HuMAb-Mouse[®] i KM-Mouse[®]. Wytwarzają one w 100% ludzkie przeciwciała w oparciu o ustaloną technikę hybrydomy mysiej, umożliwiając uzyskanie różnych przeciwciał praktycznie przeciw każdej żądanej powierzchniowej cząsteczce docelowej, która wydaje się przydatna w terapii immunoglobulinowej określonych chorób, oraz umożliwiając produkcję przeciwciał o wysokim powinowactwie, które nie wymagają dalszego udoskonalania genetycznego.

Wraz z rozwojem wiedzy na temat immunologii oraz genetyki i biologii molekularnej możliwe stało się uzyskanie sekwencji kodujących łańcuch lekki i ciężki danego monoklonalnego przeciwciała, a w konsekwencji pojawiła się możliwość wprowadzenia ich za pomocą metod inżynierii genetycznej do linii komórkowych, a także różnych organizmów, co pozwoliło na ich wielkoskalową produkcję. Stworzone w ten sposób linie komórkowe, produkujące przeciwciała, stanowią obecnie najczęściej wykorzystywaną platformę do komercyjnej produkcji tych białek. Do

najpopularniejszych linii komórkowych wykorzystywanych w tym procesie należą komórki HeLa, HEK293 oraz komórki jajnika chomika chińskiego CHO.

Wykorzystanie linii komórkowych istotnie uprościło i ustandaryzowało proces produkcji przeciwciał, ale nie można zapominać, że nie jest to system pozbawiony wad. Linie komórkowe, szczególnie ludzkie, są podatne na zakażenia wirusowe, które mogą być szkodliwe dla ludzi. W związku z tym, podczas produkcji, muszą być zachowane szczególne środki ostrożności, które mają na celu zachowanie pełnej sterylności.

W ostatnich kilkunastu latach wynaleziono sposób na produkcję rekombinowanych białek, w tym również przeciwciał w roślinach. Metodami inżynierii genetycznej do genomu rośliny (np. tytoniu) wprowadza się fragmenty kodujące białko – np. przeciwciało. Rośliny wytwarzają następnie te przeciwciała, które można wyizolować i oczyścić np. z liści. Inną metodą jest użycie tak zwanej przejściowej ekspresji przeciwciał w roślinach za pomocą bakterii *Agrobacterium tumefaciens*. Rośliny zanurza się w zawieszynie bakterii i poddaje działaniu niskiego ciśnienia. Roztwór bakterii wnika w przestrzenie międzykomórkowe. Bakterie *A. tumefaciens* mają zdolności do wprowadzania sekwencji DNA do komórki roślinnej i ekspresji wybranych genów bakteryjnych z tego fragmentu, również sztucznie wprowadzonych sekwencji kodujących przeciwciała. W ten sposób można produkować przeciwciała szybko i w razie potrzeby bez żmudnego procesu tworzenia organizmów GMO [8].

Stworzono także technikę genetyczną produkcji przeciwciał terapeutycznych. Jest to tzw. technika fagowej ekspresji peptydów. W metodzie tej w pierwszej kolejności konieczne jest wyizolowanie segmentów genów kodujących regiony zmienne przeciwciał, a więc odpowiedzialnych za wiązanie antygeny. Wykorzystuje się do tego komórki śledziony lub obwodowe komórki B (pochodzenia ludzkiego), z których izoluje się mRNA i przepisuje na komplementarny odcinek DNA (cDNA). Fragmenty DNA kodujące regiony zmienne przeciwciał łączy się z genem dla białka osłonki bakteriofaga. Następnie fagi te wykorzystywane są do zakażenia bakterii. Powstające wówczas cząsteczki faga prezentują na swojej powierzchni białko fuzyjne przeciwciała. Zgromadzenie wielu różnych fagów określa się mianem fagowej biblioteki ekspresyjnej (*ang. phage display library*). Selekcję swoistej antygenowo cząsteczki faga przeprowadza się poprzez kontakt z antygenem, a tak uzyskany fag wykorzystuje się do ponownego zakażenia bakterii. Po kilku cyklach selekcji otrzymuje się fagi o wysokim powinowactwie, które mogą być wykorzystywane w roli przeciwciał. DNA faga kodujące regiony wiążące antygen można izolować i łączyć z genami części stałej przeciwciała. Przeniesienie tak zrekonstruowanego genu dla przeciwciała na komórki eukariotyczne, które same nie wytwarzają przeciwciał, takie jak znane już komórki szpiczaka, sprawia że zaczynają one produkować przeciwciała o identycznej charakterystyce co przeciwciała monoklonalne. Opisana metoda pozwala na produkcję przeciwciał ludzkich, czyli takich na których w leczeniu zależy nam najbardziej z uwagi na ich niską immunogenność i wysoką swoistość.

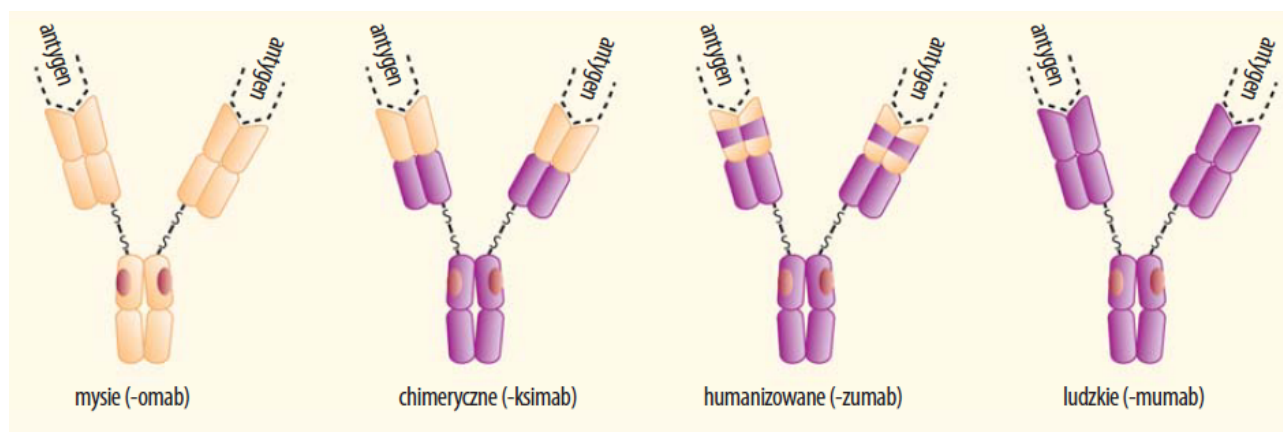
Dla prawidłowej funkcji białka, którym jest każde przeciwciało istotna jest obecność reszt cukrowych. Dlatego też glikozylacja jest istotnym elementem produkcji przeciwciał terapeutycznych, gdyż reguluje ich rozpuszczalność i stabilność. Skład części cukrowej przeciwciała decyduje o jego skuteczności klinicznej poprzez wpływ na immunogenność, okres półtrwania oraz funkcje efektorowe. Przy projektowaniu pro- lub przeciwzapalnych przeciwciał terapeutycznych istotny jest skład oligosacharydowy ich reszt cukrowych. IgG terapeutyczne o potencjale prozapalnym uzyskuje się przez obecność reszt GlcNAc (N-acetyloglukozaminy) przedzielającej oraz wyeliminowaniu Fuc (fukozy) i SA (kwasu sjałowego) w strukturze N-glikanów [5]. Niski poziom galaktozylacji również sprzyja aktywności prozapalnej. Zaprojektowanie sjałowanych i fukozylowanych immunoglobulin bez GlcNAc przedzielającej pozwala na uzyskanie IgG o charakterze przeciwzapalnym. Słabo sjałowane glikany IgG wiążą się z aktywującym receptorem FcγR, co uruchamia procesy cytotoksyczne. Natomiast sjałilacja

N-glikanu w części Fc zmniejsza wiązanie z FcγR i tym samym hamuje potencjał cytotoksyczny przeciwciała monoklonalnych prowadząc do powstania niereaktywnej cząsteczki.

1.4. Rodzaje przeciwciał monoklonalnych.

Jak wcześniej wspomniano pierwsze uzyskane przeciwciała monoklonalne były to przeciwciała mysie. Zbudowane one były w 100% z białek pochodzących od myszy. Przeciwciała te były jednak zbyt immunogenne, aby mogły być stosowane u ludzi. Powodowały tzw. reakcję HAMA (*ang. Human Anti-Mouse Antibody response*), skierowaną przeciwko obcogatunkowej mysiej immunoglobulinie. Rozwiązaniem problemu, a zarazem przełomem umożliwiającym stosowanie terapeutyczne przeciwciał było połączenie metod inżynierii genetycznej i technik hybrydomy. Wymiana DNA obszarów konserwatywnych mysich przeciwciał monoklonalnych na odpowiednie obszary ludzkiego przeciwciała pozwoliła uzyskać wysoką tolerancję takich cząsteczek bez obniżenia swoistości cząsteczki, a także wydłużyć okres półtrwania w surowicy. Proces ten określony został mianem humanizowania przeciwciał. Powoduje on zmniejszenie ryzyka wywołania reakcji HAMA, ale niekiedy może również wiązać się z utratą swoistości przeciwciała.

Tak więc początkowo powstały przeciwciała chimeryczne zawierające 65-90% białek ludzkich. Pod względem budowy przeciwciała chimeryczne składają się z mysich regionów zmiennych, odpowiadających za rozpoznanie antygeny, które są przyłączone z częścią stałą (efektorową) przeciwciała ludzkiego. Następnym etapem było stworzenie przeciwciał humanizowanych (będących w 95% przeciwciałami ludzkimi). W przeciwciałach tych jedynie sekwencje CDR są pochodzenia mysiego. Zarówno obszary zmienne, jak i regiony szkieletowe są zastąpione przez sekwencje ludzkiego przeciwciała. Dzięki rozwojowi inżynierii genetycznej udało się także uzyskać w pełni ludzkie przeciwciała monoklonalne (Rys 7.)



Rys. 7. Podział przeciwciał monoklonalnych ze względu na pochodzenie[9].

Początkowo dzięki wykorzystaniu metod mutacji i selekcjonowania na bazie ludzkiego przeciwciała tworzone w warunkach *in vitro* przeciwciała o żądanej swoistości. Obecnie ludzkie przeciwciała terapeutyczne otrzymuje się dzięki technice ekspresji w komórkach ssaczy, fagowej ekspresji peptydów lub z wykorzystaniem myszy transgenicznych.

W terapii zastosowanie mają klasyczne przeciwciała monoklonalne. Są to przeciwciała monoklonalne, które nie podlegają dalszym modyfikacjom. Obecnie w czasach rozwoju metod inżynierii genetycznej takie przeciwciała mogą być łączone z innymi związkami chemicznymi [10], co pozwala rozszerzyć ich właściwości i zastosowanie [11].

W celu zwiększenia efektywności, terapeutyczne przeciwciała monoklonalne można modyfikować poprzez tworzenie koniugatów zawierających [12]:

a) toksyny

Zasada działania takich koniugatów polega na tym, że po przyłączeniu się do danego antygeny (np. na powierzchni komórki nowotworowej) toksyna może niszczyć komórkę

niosącą ten antygen. W ten sposób mogą być niszczone określone komórki bez szkody dla innych komórek organizmu. Jest to możliwe dzięki modyfikacji toksyny w taki sposób, żeby nie mogła ona uszkadzać innych komórek, do których immunotoksyna mogłaby się przypadkowo przyłączyć, np. poprzez część Fc przeciwciała. Oprócz sprzęgnięcia całego przeciwciała monoklonalnego z toksyną, można także połączyć toksynę jedynie z częścią zmienną przeciwciała (Fab), która odpowiedzialna jest jedynie za rozpoznawanie antygeny.

b) leki

Takie koniugaty tworzy się w podobnym celu, co immunotoksyny. Dzięki temu możliwe jest dostarczenie leku bezpośrednio do chorego miejsca, np. nowotworu. W ten sposób można stosować mniejszą dawkę leku, co ogranicza efekty uboczne, co w przypadku np. chemioterapii ma olbrzymie znaczenie.

c) radioizotopy

Koniugaty z radioizotopami umożliwiają lokalne „naświetlenie” komórek nowotworowych. Umożliwia to zmniejszenie dawki promieniowania oraz bardziej precyzyjne naświetlenie. Podobnie jak w przypadku immunotoksyn i połączeń z lekami, połączenia z radioizotopem umożliwiają także zwalczanie małych skupisk tkanek nowotworowych, które nie mogą być wykryte. Ponadto używając detektorów promieniowania, możliwe jest także zidentyfikowanie miejsc występowania przerzutów, zwłaszcza w postaci bardzo małych guzków, niewykrywalnych innymi metodami.

d) przeciwciała o podwójnej swoistości

Są to przeciwciała, które mogą reagować z dwoma różnymi antygenami. Jest to możliwe dzięki sprzężeniu ze sobą dwóch kompletnych przeciwciał monoklonalnych, dwóch części Fab pochodzących z różnych przeciwciał lub dwóch różnych łańcuchów ciężkich połączonych z różnymi łańcuchami lekkimi. Przeciwciała takie można zastosować w leczeniu nowotworów w ten sposób, że jedna część przeciwciała łączy się z komórką nowotworową, druga zaś z limfocytom T cytotoksycznym, co pozwala na zabicie komórki nowotworowej.

e) przeciwciała o właściwościach katalitycznych (abzymy)

Zasada ich działania polega na tym, że mogą one przeprowadzić substrat w produkt poprzez związek pośredni, analogicznie do enzymów. Abzymy otrzymuje się w ten sposób, że otrzymuje się przeciwciała monoklonalne przeciwko antygenowi podobnemu do stadium przejściowego reakcji enzymatycznej. Takie przeciwciało może wiązać substrat tej reakcji i przekształcać go do stanu przejściowego, zaś dalsza część reakcji zachodzi samorzutnie. Abzymy są o wiele mniej skuteczne od enzymów, ale prawdopodobnie znajdują zastosowanie w katalizie niespotykanych w przyrodzie reakcji.

f) przeciwciała antygenizowane

Otrzymuje się je poprzez zastąpienie trzeciego regionu hipermiennego przeciwciała epitopem danego antygeny. Podanie takich przeciwciał powoduje silniejsze pobudzenie układu odpornościowego niż w przypadku podania samego antygeny. Mechanizmy tego zjawiska nie są jednak jeszcze poznane.

1.5. Nazewnictwo przeciwciał monoklonalnych

Do tworzenia nazw międzynarodowych przeciwciał monoklonalnych stosuje się specjalny system ustalony zgodnie z zasadami United States Adopted Name (USAN). Przeciwciała monoklonalne w swojej nazwie międzynarodowej mają zawsze wspólną końcówkę -mab. Zawierają także człon określający cel molekularny, dla którego przeciwciało zostało stworzone i przyrostek określający pochodzenie. Tabela 2 [13].

Tab.2. Nazewnictwo przeciwciał monoklonalnych

Początek nazwy	Człon określający cel molekularny	Człon określający pochodzenie	Końcówka
Nie ma znaczenia dla funkcji, czy pochodzenia przeciwciała. Jest unikatowy dla każdego przeciwciała i z reguły zastrzeżony dla producenta	-vir- wirusowe	-u-ludzkie	-mab
	-bac- bakteryjne		
	-lim- odpornościowe	-o- mysie	
	-les-wrzody/ubytki pochodzenia infekcyjnego	-a- szczurze	
	-circ- sercowo-naczyniowe		
	-fung- antygrzybicze	-zu-humanizowane	
	-ner- neurologiczne		
	-kin-interleukiny	-e- chemiczne	
	-mul-mięśniowe		
	-os-kostne	-i- ssaki naczelne	
	-col-jelito grube		
	-mel-czerniak	-xi-chimeryczne	
	-mar- rak piersi		
	-got- rak jader	-axo-szczurzo-mysie	
	-gov-rak jajników		
	-pr(o)- rak prostaty	-xizu- kombinacja łańcuchów humanizowanych i chimerycznych	
-tum- różne			

Poniżej przedstawiono przykłady tworzenia nazw przeciwciał:

Adrecolomab

Adre- + -col- + -o- + -mab - przeciwciał mające wpływ na jelito grube, pochodzenia mysiego posiadają -o- przed- mab tzn ich końcówka to -omab np.

Rituximab

Ri - + -tu(m)- + -xi- mab- przeciwciał stosowane w różnych nowotworach, chimeryczne

Trastuzumab

Tras - + -tu(m)- + -zu- + -mab- przeciwciało stosowane w różnych nowotworach, humanizowane

Adalimumab

Ada - + -lim- + -u- + -mab – przeciwciało mające wpływ na układ odpornościowy, pochodzenia ludzkiego

Abciximab

Ab- + -ci(r)- + -xi- + -mab – Przeciwciało mające wpływ na układ sercowo-naczyniowy, chimeryczne

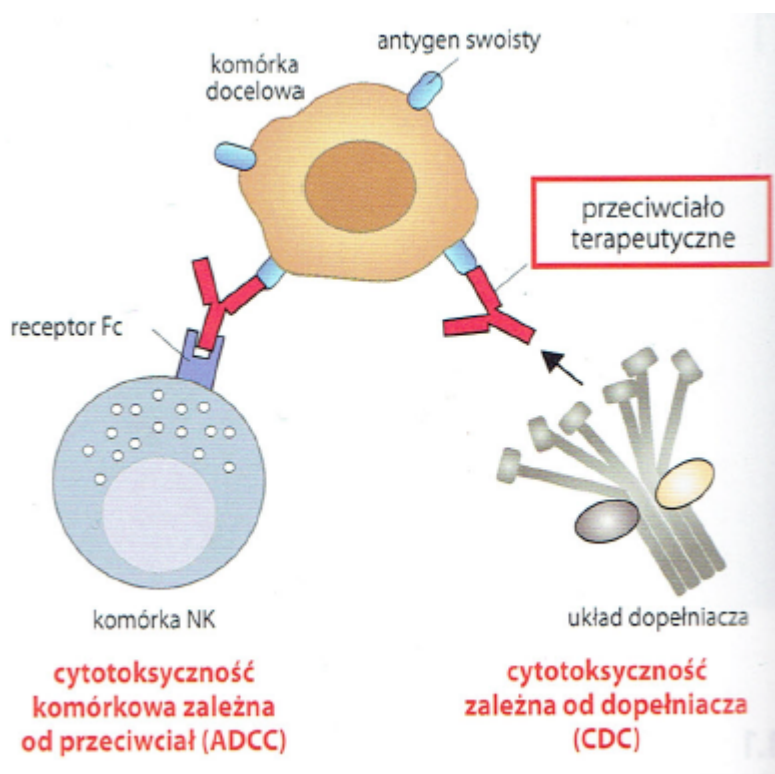
1.6. Mechanizm działania przeciwciał

Mechanizmy warunkujące aktywność przeciwciał można podzielić na immunozależne (Rys. 8) oraz immunoniezależne [14].

Mechanizmy nieangażujące procesów immunologicznych (immunoniezależne) polegają głównie na aktywacji apoptozy lub zahamowaniu szlaków transdukcji sygnału w wyniku związania receptorów błonowych na powierzchni komórki. Przeciwciała monoklonalne mogą blokować sygnały niezbędne do stymulacji przeżycia i wzrostu komórek poprzez:

- eliminację liganda
- blokadę miejsca wiążącego ligand na receptorze
- modyfikację aktywności receptora
- blokadę dimeryzacji receptora

Określenie, który z wymienionych nakładających się mechanizmów ukierunkowanych na receptory błonowe jest najbardziej istotny, stanowi niezwykle trudne zadanie.



Rys.8. Możliwe immunozależne mechanizmy działania przeciwciał monoklonalnych po związaniu się z docelowym antygenem. [7,15].

Z kolei mechanizmy immunozależne związane z aktywnością układu immunologicznego to:

- cytotoksyczność zależna od przeciwciał (ADCC, *ang. antibody-dependent cellular cytotoxicity*)

Dzięki możliwości wiązania przeciwciał monoklonalnych z receptorem FcγR obecnym na powierzchni wielu komórek efektorowych układu immunologicznego (np. limfocyty, komórki NK, granulocyty, monocyty/makrofagi) dochodzi do cytotoksyczności zależnej od przeciwciał. Pobudzenie komórek NK prowadzi do wydzielenia enzymów: perforyn, granzymów, a także pobudza ekspresję liganda FasL dla receptora Fas obecnego na powierzchni komórek. Aktywacja makrofagów stymuluje proces fagocytowania komórek opłaszczonych przeciwciałami oraz produkcję proteaz, cytokin oraz wolnych rodników tlenowych. Przeciwciała rozpoznają docelowy antygen i wiążą się z nim za pomocą regionu Fab. Następnie dochodzi do rozpoznania regionu Fc przez receptory Fcγ typu R. Na limfocytach występują 3 typy receptorów tej rodziny: Fcγ RI, RII oraz RIII. Związanie

przeciwciała z regionem Fc γ RI i RIII powoduje pobudzenie komórek efektorowych układu immunologicznego. Z kolei wiązanie z Fc γ RII stymuluje sygnał supresyjny. Aktywność ADCC zależy od izotypu użytego przeciwciała. Wykazano, że przeciwciała IgG1 oraz IgG3 wiążą się do Fc γ R lepiej niż IgG2 oraz IgG4. Na skuteczność terapii mają również wpływ polimorfizmy genów dla receptorów. Mutacja punktowa w pozycji 559 genu dla Fc γ RIIIa powoduje zamianę reszt aminokwasowych z Val na Phe w pozycji 158. Receptor, w którym dochodzi do takiej wymiany wykazuje mniejsze powinowactwo do przeciwciał. Z kolei mutacja i podstawienie His zamiast Arg w Fc γ RIIa zwiększa powinowactwo receptora do IgG2.

- cytotoksyczność zależna od dopełniacza (CDC, *ang. complement-dependent cytotoxicity*). Zjawisko aktywowania układu dopełniacza przez przeciwciała jest znane badaczom od ponad 100 lat. Dziś wiadomo, że niektóre przeciwciała monoklonalne działają efektywnie aktywując dopełniacz. Aby jednak do tego doszło muszą być spełnione określone warunki. Są to: odpowiednie stężenie antygeny na powierzchni, jego orientacja w błonie komórkowej, a także to, czy jest monomeryczny czy polimerem. Warunkiem aktywacji dopełniacza może być wprowadzenie odpowiedniego izotypu przeciwciała oraz charakter komórki, w tym np. zdolność do produkcji cząsteczek hamujących działanie układu dopełniacza. Różnice w aktywowaniu komplementu mogą pojawić się nawet wtedy, gdy przeciwciała są izotypami i skierowane są w kierunku tego samego antygeny.

Ogólnie można przyjąć, że przeciwciała monoklonalne wiążą się z antygenami na powierzchni komórki i indukują procesy jej zniszczenia. Dodatkowo niektóre przeciwciała jako nośniki substancji czynnej wprowadzają bezpośrednio do komórek posiadających określony antygen lek, toksynę lub radioizotop powodując działanie bezpośrednie na chorą komórkę, bez wpływu na komórki zdrowe. Dodatkowo niektóre przeciwciała wykazujące tzw. bispecyficzność, tzn. rozpoznając dwa różne antygeny mają zdolność połączenia dwóch różnych komórek np. komórki nowotworowej i limfocyta T w celu zabicia komórki nowotworowej. Przeciwciała monoklonalne mogą wiązać się nie tylko do komórek, które posiadają rozpoznawane antygeny. Jeżeli cząsteczki posiadające rozpoznawany przez przeciwciała antygen krążą w ustroju mogą one być wiązane i usuwane z niego przez przeciwciała. Tak działa przeciwciało usuwające z krwi dabigatran – lek przeciwwzakrzepowy.

Osobną grupę przeciwciał stanowią przeciwciała ukierunkowane na określone białka supresorowe tzw. punkty kontrolne (*ang. check-points*) na powierzchni komórek immunologicznych oraz przeciwciała eliminujące białka obecne w mikrośrodowisku guza.

2. Przegląd przeciwciał monoklonalnych (przeciwciał terapeutycznych)

W pracy opisano niektóre przeciwciał monoklonalnych znajdujących się w wykazie Produktów Leczniczych wpisane do Rejestru Produktów Leczniczych Dopuszczonych do Obrotu na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej. - Produkty lecznicze wpisane do Wspólnotowego Rejestru Produktów Leczniczych na dzień 28.12.2020 r. Sklasyfikowano je zgodnie z celem terapeutycznym wobec którego mają zastosowanie.

Przeciwciała mają głównie zastosowanie w takich schorzeniach jak: choroby autoimmunologiczne, nowotwory złośliwe i schorzenia układu sercowo-naczyniowego. Związane jest to z mechanizmem działania przeciwciał i celami terapeutycznymi na które są one ukierunkowane. Umożliwia to stworzenie pewnych strategii terapeutycznych, które pozwalają uzyskać określony efekt terapeutyczny.

Budowa i pochodzenie poszczególnych przeciwciał monoklonalnych zostały podane w oparciu o leki oryginalne. Niekiedy leki biopodobne różnią się pochodzeniem tzn. sposobem otrzymywania od leku oryginalnego. Wskazania zostały opisane według kart charakterystyki i są zgodne z danymi rejestracyjnymi. Dane te są dostępne na stronach <http://chpl.com.pl> , <http://www.ema.europa.eu> oraz <https://ec.europa.eu/health/>. Datę rejestracji przeciwciał podano w oparciu o czas zaaprobowania przez FDA (Food and Drug Administration).

2.1. Przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi CD 52

CD52 to glikoproteina powierzchniowa obecna między innymi na autoreaktywnych limfocytach T i B. Przeciwciało skierowane przeciwko tej glikoproteinie powoduje deplację, czyli zmniejszenie liczby komórek. Znalazło więc zastosowanie w chorobach autoimmunologicznych i nowotworowych związanych z układem immunologicznym.

Alemtuzumab

lek oryginalny: MabCampath [16], Lemtrada [17]

data rejestracji: 2001

Budowa i pochodzenie:

Alemtuzumab to uzyskane metodą inżynierii genetycznej humanizowane ludzkie przeciwciało monoklonalne IgG1 κ , skierowane przeciwko glikoproteinie CD52 znajdującej się na powierzchni limfocytów. Wytworzono je poprzez wstawienie (wymianę) do cząsteczki ludzkiej immunoglobuliny IgG1 sześciu, warunkujących komplementarność, regionów szczyrzego przeciwciała monoklonalnego IgG2a. Przeciwciało wytwarzane jest w komórkach ssaków (jajnika chomika chińskiego), hodowanych w postaci zawiesiny w pożywce.

Wskazania do stosowania:

Alemtuzumab jest zarejestrowany w dwóch wskazaniach. W przypadku produktu leczniczego MabCampath w dawce 30 mg jest on w wskazany w leczeniu pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytarną (*ang. Chronic Lymphocytic Leukaemia, CLL*). Natomiast produkt leczniczy Lemtrada w dawce 12 mg jest wskazany w leczeniu dorosłych pacjentów z aktywną rzutowo-ustępującą postacią stwardnienia rozsianego (*ang. Relapsing Remitting Multiple Sclerosis, RRMS*)

Mechanizm działania.

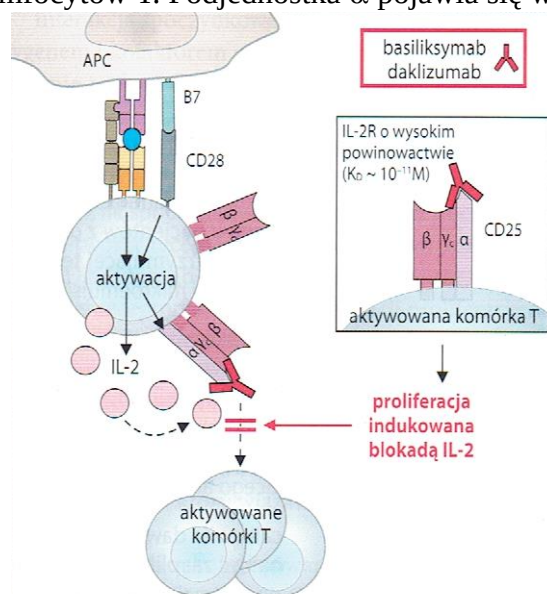
Alemtuzumab wiąże się z antygenem CD52, który ulega ekspresji przede wszystkim na prawidłowych i zmienionych nowotworowo limfocytach typu B i T krwi obwodowej. Jest on wytwarzany prawie przez wszystkie komórki przewlekłej białaczki limfocytowej (CLL) oraz większość komórek chłoniaków niezrębnych. Stwierdzono występowanie tego antygeny w niewielkim odsetku na powierzchni granulocytów, ale nie występuje on ani na erytrocytach ani na płytkach krwi. Alemtuzumab w wyniku połączenia z glikoproteiną CD52 powoduje rozpad

limfocytów w wyniku aktywacji układu dopełniacza (CDC) i cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC). Związanie przeciwciała wyzwała ponadto mechanizmy apoptozy. Wydaje się, że alemtuzumab nie powoduje uszkodzenia krwiotwórczych komórek macierzystych, ani komórek prekursorowych co prawdopodobnie wynika z braku CD52 na tych komórkach.

Mechanizm działania terapeutycznego tego przeciwciała w przypadku stwardnienia rozsianego nie został w pełni wyjaśniony. Jednakże badania wskazują na oddziaływanie o charakterze immunomodulacyjnym w drodze zmniejszenia liczebności i odtworzenia populacji limfocytów. Stosowanie tego przeciwciała powoduje zmianę liczebności, odsetka i właściwości niektórych podgrup limfocytów. Zwiększenie udziału podgrupy regulatorowych limfocytów T, oraz zwiększenie udziału podgrupy limfocytów pamięci T oraz B. Powoduje także przejściowy wpływ na składniki odporności wrodzonej (tj. neutrofile, makrofagi, komórki NK). Zmniejszenie liczby limfocytów T oraz B w krwioobiegu wywoływane przez przeciwciało i następujące po tym odtworzenie populacji może zmniejszać ryzyko nawrotu choroby, co ostatecznie opóźnia jej progresję.

2.2. Przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi CD25

Antygen CD25 jest to łańcuch α receptora dla interleukiny-2. Receptor dla IL-2 zbudowany jest z 3 podjednostek α , β , γ z których dwie ostatnie są konstytutywnie obecne na powierzchni limfocytów T. Podjednostka α pojawia się w dopiero po stymulacji komórki obecnością antygeny.



Rys.9. Mechanizm działania bazyliksymabu i daklizumabu [7]

Bazyliksymab

lek oryginalny: Simulect [18]

data rejestracji: 1998

Budowa i pochodzenie:

Jest to rekombinowane chimeryczne (mysie/ludzkie) przeciwciało monoklonalne, wyprodukowane w linii komórkowej mysiego szpiczaka przy zastosowaniu technologii rekombinacji DNA, skierowane przeciwko łańcuchowi α receptora dla interleukiny-2. Fragment stały łańcucha ciężkiego pochodzi z ludzkiego przeciwciała IgG1, a łańcuch lekki jest łańcuchem kappa (κ).

Wskazania do stosowania:

Bazyliksymab jest stosowany w profilaktyce ostrego odrzucania przeszczepu po *de novo* (pierwszorazowej) allogenicznej transplantacji nerki u dorosłych i dzieci. Jest przeznaczony do jednoczesnego stosowania z leczeniem immunosupresyjnym cyklosporyną w postaci mikroemulsji

i kortykosteroidami u pacjentów z panelem przeciwciał reaktywnych (limfocytotoksycznych) poniżej 80% lub w trójlekowej podtrzymującej terapii immunosupresyjnej, w skład której wchodzi: cyklosporyna w postaci mikroemulsji, kortykosteroidy oraz azatiopryna lub mykofenolan mofetylu.

Mechanizm działania:

Bazyliksymab z dużym powinowactwem wybiórczo wiąże się z antygenem CD25 na aktywowanych limfocytach T, przejawiając wysokie powinowactwo do receptora dla IL-2 (Rys. 9). W ten sposób blokuje przyłączenie interleukiny-2, stanowiące decydujący sygnał do proliferacji limfocytów T w komórkowej odpowiedzi immunologicznej towarzyszącej odrzucaniu alop przeszczepu. Bazyliksymab nie działa supresyjnie na szpik kostny.

Daklizumab

lek oryginalny: Zinbryta [19]

data rejestracji: 1997

Budowa i pochodzenie:

Daklizumab beta wytwarzany jest w linii komórek ssaków (NS0) metodą rekombinacji DNA. Jest to humanizowane monoklonalne przeciwciało klasy IgG1.

Wskazania do stosowania:

Daklizumab był wskazany do leczenia dorosłych pacjentów z rzutowymi postaciami stwardnienia rozsianego (RSM), u których nie wystąpiła wystarczająca odpowiedź na co najmniej dwa rodzaje leczenia modyfikującego przebieg choroby (*ang. disease modifying therapy*, DMT) i u których zastosowanie jakiegokolwiek innego leczenia jest przeciwwskazane lub z innego powodu niewłaściwe.

Mechanizm działania:

Daklizumab beta moduluje szlak sygnałowy IL-2 poprzez blokowanie sygnałów receptora IL-2 o wysokim powinowactwie (Rys. 9), zależnego od CD-25, rezultatem tego jest większa sygnalizacja przez receptor IL-2 o średnim powinowactwie. Kluczowe efekty tego modulowania szlaku sygnałowego IL-2, potencjalnie związane z działaniem terapeutycznym daklizumabu beta w SM, obejmują selektywny antagonizm aktywowanych limfocytów T oraz ekspansję immunoregulujących komórek NK (*ang. NK - Natural Killer*). Jak wykazano procesy te, selektywnie zmniejszają liczbę zaktywowanych limfocytów T. Uważa się, że te działania immunomodulujące daklizumabu beta zmniejszają patologię w OUN w SM a, co za tym idzie, zmniejszają częstość występowania rzutów i progresję niepełnosprawności.

2.3. Przeciwciała skierowane przeciwko antygenom CD19/CD3.

Antygen CD19 jest cząsteczką różnicującą pojawiającą się na szpikozależnych limfocytach B, natomiast antygen CD3 jest obecny na limfocytach T.

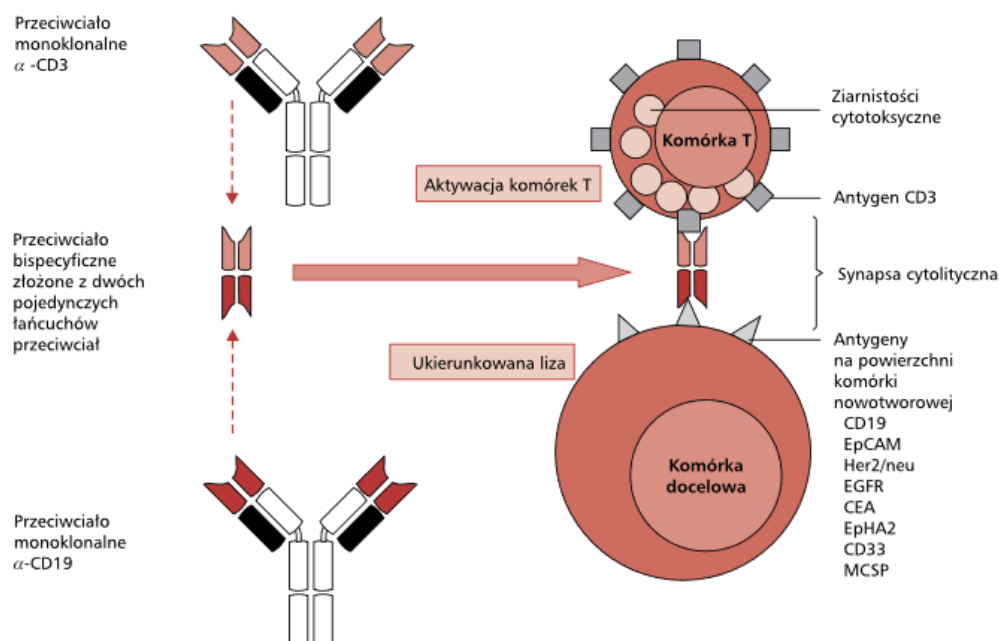
Blinatumomab

lek oryginalny: Blincyto [20]

Budowa i pochodzenie:

Blinatumomab jest wytwarzany w komórkach jajnika chomika chińskiego metodą rekombinacji DNA. Dzięki zastosowaniu metody klonowania uzyskano rekombinowane jednołańcuchowe fragmenty Fv o wysokim powinowactwie. Doprowadziło to do powstania biwalentnych, bispecyficznych fragmentów przeciwciała, tak zwanych diprzeciwciał. W przypadku blinatumomabu sekwencja DNA pojedynczego fragmentu łańcucha ciężkiego sc Fv (VHA) CD19 jest połączona z sekwencją DNA pojedynczego fragmentu łańcucha lekkiego CD3 sc Fv (VLB) krótką sekwencją łącznikową z wytworzeniem pojedynczego peptydu VHA-VLB. Analogicznie sekwencja DNA pojedynczego łańcucha lekkiego CD19 sc Fv (VLA) jest połączona krótką sekwencją łącznikową z pojedynczym fragmentem łańcucha ciężkiego sc Fv CD3 z wytworzeniem drugiego peptydu VHB-VLA. Dwa łańcuchy polipeptydowe VHA-VLB i VHB-VLA ulegają

niekowalencyjnej heterodimeryzacji z wytworzeniem diprzeciwciała zawierającego bispecyficzne miejsca wiążące antygeny CD19 i CD3 (Rys. 10)



Rys. 10. Budowa i mechanizm działania Binatumomabu [9].

Wskazania do stosowania:

Blinatumomab jest wskazany do stosowania w leczeniu dorosłych i dzieci z nawrotową lub oporną na leczenie ostrą białaczką limfoblastyczną (*ang. acute lymphoblastic leukaemia, ALL*) z komórek prekursorowych linii B bez chromosomu Philadelphia i z ekspresją antygeny CD19.

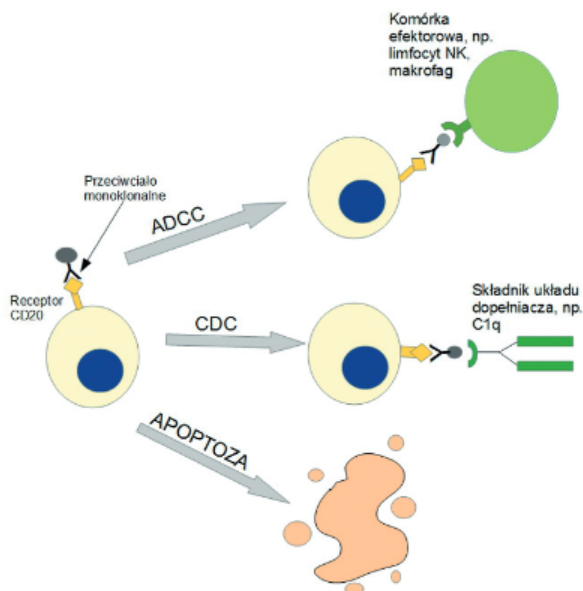
Mechanizm działania:

Blinatumomab jest bispecyficznym przeciwciałem angażującym limfocyty T, które wiąże się swoiście z cząsteczką CD19, ulegającą ekspresji na powierzchni komórek wywodzących się z linii B oraz z cząsteczką CD3 ulegającą ekspresji na powierzchni limfocytów T. Blinatumomab aktywuje endogenne limfocyty T, łącząc cząsteczkę CD3 w kompleksie receptora limfocytu T (*ang. T-cell receptor, TCR*) z cząsteczką CD19 na powierzchni prawidłowych i nowotworowych limfocytów B. Przeciwnowotworowe działanie immunoterapii blinatumomabem nie jest zależne od limfocytów T posiadających swoisty receptor TCR, ani od antygenów peptydowych prezentowanych przez komórki nowotworowe, natomiast zachowuje poliklonalną charakterystykę i jest niezależne od antygenów zgodności tkankowej (*ang. human leukocyte antigen, HLA*) obecnych na komórkach docelowych. Blinatumomab uczestniczy w tworzeniu synapsy cytotoxicznej między limfocytym T, a komórką nowotworową, w której uwalniane są enzymy proteolityczne niszczące zarówno komórki docelowe proliferujące, jak i będące w stanie spoczynku. Podanie blinatumomabu wiąże się z przemijającym wzrostem ekspresji komórkowych molekuł adhezyjnych, wytwarzaniem białek cytotoxicznych, uwalnianiem cytokin prozapalnych i proliferacją limfocytów T, co w konsekwencji powoduje eliminację komórek limfocytów B CD19+.

2.4. Przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi CD20

Antygen CD20 jest białkiem powierzchniowym komórek B. Jest on nieglikozylowaną fosfoproteiną znajdującą się zarówno na komórkach pre-B jak i dojrzałych komórkach B. Pojawia się ono na powierzchni w trakcie różnicowania. Na etapie dojrzewania komórek B, ekspresja antygeny CD20 pojawia się w trakcie rozwoju limfoblastów B (komórek pre-B), a zanika

w końcowym etapie dojrzewania komórek B polegającym na przekształceniu się w plazmocyty. Nie występuje on na hematopoetycznych komórkach pnia, na wczesnych limfocytach pro-B, na prawidłowych komórkach plazmatycznych, ani na komórkach innych zdrowych tkanek. Jest on obecny na powierzchni komórek guzów wywodzących się z komórek B. Jego obecność jest charakterystyczna dla komórek chłoniaków B-komórkowych oraz CLL (*ang. chronic lymphocytic leukemia*)



Rys.11 Mechanizm działania przeciwciał anti-CD20 [7]

Obinutuzumab

lek oryginalny: Gazyvaro [21]

data rejestracji: 2013

Budowa i pochodzenie:

Obinutuzumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym typu II podklasy IgG1 otrzymywanym poprzez humanizację mysiego przeciwciała macierzystego B-Ly1. Wytwarzanym z zastosowaniem technologii rekombinacji DNA w linii komórkowej pochodzącej z jajnika chomika chińskiego. Jest on pierwszym przeciwciałem wytworzonym metodą glikoinżynierii i określany jest jako przeciwciało anti-CD20 typu II. Wszystkie przeciwciała IgG1 są glikozylowane. Glikoinżynieria polega na modyfikacji łańcucha cukrowego prowadzącej do usunięciu fukozy co zwiększa powinowactwo do receptora FcγR na komórkach efektorowych. Powoduje to nasilenie cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (*ang. Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity, ADCC*).

Wskazania do stosowania:

W skojarzeniu z chlorambucylem obinutuzumab jest wskazany do stosowania u dorosłych z wcześniej nieleczoną przewlekłą białaczką limfocytową. Drugim wskazaniem jest chłoniak grudkowy (*ang. Follicular Lymphoma, FL*), w którym początkowo podawany jest w skojarzeniu z chemioterapią, a następnie w monoterapii w leczeniu podtrzymującym u pacjentów, u których wystąpiła odpowiedź na leczenie lub u których podczas leczenia lub maksymalnie do 6 miesięcy po leczeniu rytuksymabem lub schematem zawierającym rytuksymab, wystąpiła progresja choroby.

Mechanizm działania:

Obinutuzumab jest przeciwciałem skierowanym przeciwko antygenowi CD20. Przeciwciało to działa bezpośrednio na pozakomórkową pętlę antygeny przezbłonowego CD20, na powierzchni niezłośliwych i złośliwych limfocytów pre-B i dojrzałych limfocytów B, ale nie na powierzchni krwiotwórczych komórek macierzystych, komórek pro-B, prawidłowych komórek krwi i innych prawidłowych tkanek. Glikoinżynieria fragmentu Fc obinutuzumabu powoduje

wzrost powinowactwa do receptorów FcγRIII komórek efektorowych, takich jak komórki NK, makrofagi, monocyty w porównaniu z przeciwciałami, których nie modyfikowano metodami glikoinżynieryjnymi.

W badaniach nieklinicznych stwierdzono, że obinutuzumab indukuje bezpośrednią śmierć komórkową i pośredniczy w procesie cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC) oraz fagocytozy komórkowej zależnej od przeciwciał (*ang. Antibody Dependent Cellular Phagocytosis*, ADCP) poprzez rekrutację immunologicznych komórek efektorowych FcγRIII+. Ponadto, *in vivo* obinutuzumab jest mediatorem niewielkiego stopnia cytotoksyczności zależnej od dopełniacza (CDC). W porównaniu do przeciwciał typu I, obinutuzumab - przeciwciało typu II - charakteryzuje się większą zdolnością indukowania bezpośredniej śmierci komórkowej, przy jednoczesnym ograniczeniu CDC, po zastosowaniu równoważnej dawki. Obinutuzumab, jako przeciwciało modyfikowane metodami glikoinżynieryjnymi, charakteryzuje się podwyższoną ADCC i ADCP, w porównaniu do przeciwciał niemodyfikowanych metodami glikoinżynieryjnymi, w równoważnych dawkach.

Ibrytumomab tiuksetan

lek oryginalny: Zevalin [22]

data rejestracji: 2002

Budowa i pochodzenie:

Ibrytumomab tiuksetan jest rekombinowanym mysim przeciwciałem klasy IgG1k uzyskiwanym ze stabilnie transfekowanych komórek CHO. Jest skierowany przeciwko antygenowi CD20. Przeciwciało to jest skojarzone przez stabilne wiązanie tiomocznikowe z tiuksetanem (MX-DTPA). Łącznik ten pełni funkcję związku chelatującego, który wiąże się z wysokim powinowactwem z indem-111 oraz itrem-90. W terapii wykorzystuje się przeciwciało sprzężone z itrem-90.

Wskazania do stosowania:

Znakowany itrem-90 ibrytumomab tiuksetan jest wskazany do stosowania u dorosłych w leczeniu konsolidacyjnym, po indukcji remisji, wcześniej nieleczonych pacjentów z chłoniakiem grudkowym lub pacjentów z oporną na leczenie postacią grudkowego B-komórkowego chłoniaka nieziarniczego CD20+ lub pacjentów z nawrotem choroby po leczeniu rytuksymabem.

Mechanizm działania:

Przeciwciało wiąże się z epitopem CD20 na komórkach pre-B oraz dojrzałych komórkach B. Poprzez przyłączenie itru-90 do przeciwciała związana przez nie komórka B jest narażona na silne promieniowanie beta. Średni zakres tego oddziaływania wynosi 5mm. Podanie ibrytumomabu tiuksetan wymaga premedykacji rytuksymabem w celu usunięcia krążących komórek B poprzez indukcję cytolizy zależnej od dopełniacza (CDC) oraz cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC), co pozwala na bardziej precyzyjne napromienienie komórek B chłoniakowych tkanki limfatycznej przez ibrytumomab tiuksetan znakowany radioizotopem. Rytuksymab jest podawany w mniejszej dawce w porównaniu z dopuszczoną w monoterapii.

Ofatumumab

lek oryginalny: Arzerra [23]

data rejestracji: 2009

Budowa i pochodzenie:

Ofatumumab jest całkowicie ludzkim przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1, wytwarzanym w rekombinowanej mysiej linii komórkowej (NS0).

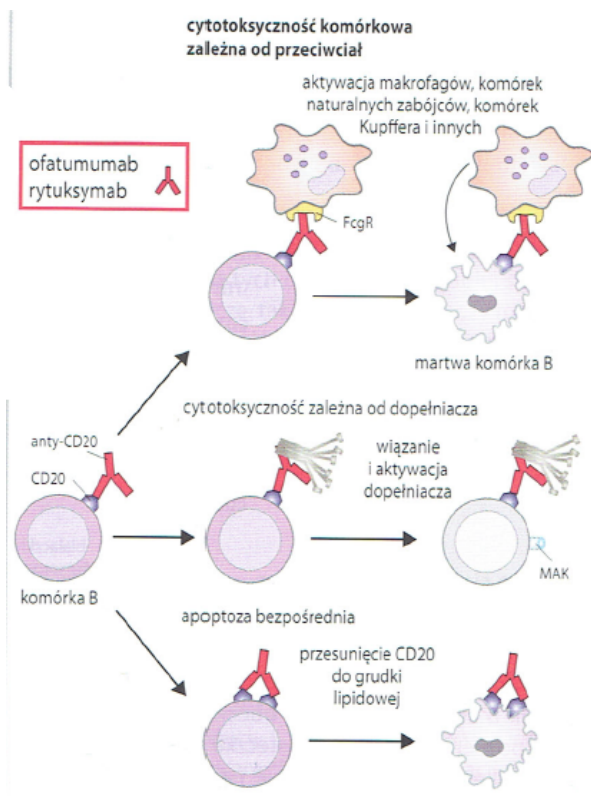
Wskazania do stosowania:

Ofatumumab w skojarzeniu z chlorambucylem lub bendamustyną jest wskazany w leczeniu pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową (PBL, *ang* CLL), którzy nie byli wcześniej leczeni i

którzy nie kwalifikują się do leczenia fludarabiną. Ma też zastosowanie w opornej na leczenie fludarabiną i alemtuzumabem PBL.

Mechanizm działania:

Ofatumumab wiąże się specyficznym epitopem, obejmującym zarówno małą jak i dużą pętlę zewnątrzkomórkową antygeny CD20. Antygen CD20 nie jest uwalniany z powierzchni komórki ani przemieszczany do wnętrza komórki po związaniu z przeciwciałem. Wiązanie ofatumumabu z epitopem w bliższej w stosunku do błony komórkowej części antygeny CD20 indukuje rekrutację i aktywację układu dopełniacza na powierzchni komórki, co prowadzi do cytotoksyczności zależnej od układu dopełniacza i w rezultacie do lizy komórek guza (Rys. 12).



Rys.12. Mechanizm działania ofatumumabu i rytuksymabu [7]

Wykazano, że ofatumumab indukuje znaczną lizę komórek z dużą ekspresją cząsteczek hamujących układ dopełniacza. Wykazano również, że ofatumumab indukuje lizę komórek zarówno w przypadku komórek o małej jak i dużej ekspresji CD20 oraz komórek opornych na rytuksymab. Ponadto wiązanie ofatumumabu umożliwia rekrutację naturalnych komórek cytotoxycznych (komórek NK) i tym samym indukcję śmierci komórki poprzez mechanizm cytotoxyczności komórkowej zależnej od przeciwciał.

Rytuksymab

lek oryginalny: MabThera [24]

data rejestracji: 1997

leki biopodobne: Blitzima, Ritemvia, Rixathon, Rituzena, Ruxience, Riximyo, Truxima

Budowa i pochodzenie:

Rytuksymab jest chimerycznym przeciwciałem monoklonalnym, ludzko-mysim, wytwarzanym dzięki zastosowaniu metod inżynierii genetycznej. Jest on glikozylowaną immunoglobuliną, zawierającą ludzkie sekwencje stałe IgG1 oraz złożone z łańcuchów lekkich i ciężkich mysie sekwencje zmienne. Przeciwciało to jest wytwarzane w hodowli zawiesiny komórek ssaków (komórki jajnika chomika chińskiego-CHO)

Wskazania do stosowania:

Rituksymab jest wskazany w leczeniu:

- a) chłoniaków nieziarnicznych (NHL):
 - w skojarzeniu z chemioterapią jest wskazany w leczeniu wcześniej nieleczonych dorosłych chorych na nieziarnicze chłoniaki grudkowe w III-IV stopniu klinicznego zaawansowania
 - jest wskazany w leczeniu podtrzymującym dorosłych chorych na nieziarnicze chłoniaki grudkowe, u których uzyskano odpowiedź na leczenie indukcyjne.
 - w monoterapii jest wskazany w leczeniu dorosłych chorych na nieziarnicze chłoniaki grudkowe w III-IV stopniu klinicznego zaawansowania w przypadku oporności na chemioterapię lub w przypadku drugiego lub kolejnego nawrotu choroby po chemioterapii.
 - jest wskazany w leczeniu dorosłych chorych na chłoniaki nieziarnicze rozlane z dużych komórek B, z dodatnim antygenem CD20, w skojarzeniu z chemioterapią wg schematu CHOP (cyklofosfamid, doksorubicyna, winkrystyna, prednizolon).
 - w skojarzeniu z chemioterapią jest wskazany w leczeniu wcześniej nieleczonych pacjentów pediatrycznych (w wieku ≥ 6 miesięcy do < 18 lat) z zaawansowanymi chłoniakami z dodatnim antygenem CD20, w tym chłoniakami rozlanym i z dużych komórek B (ang. diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL), chłoniakiem Burkitta (ang. Burkitt lymphoma, BL)/białaczką typu Burkitta (ostra białaczka z dojrzałych komórek B) (ang. mature B-cell acute leukaemia, BAL) lub chłoniakiem przypominającym chłoniak Burkitta (ang. Burkitt-like lymphoma, BLL).
- b) w skojarzeniu z chemioterapią u chorych z przewlekłą białaczką limfocytową (PBL) w leczeniu wcześniej nieleczonych chorych oraz u chorych opornych na leczenie lub z nawrotem choroby.
- c) w skojarzeniu z metotreksatem jest wskazany do stosowania w leczeniu dorosłych pacjentów z ciężkim, aktywnym reumatoidalnym zapaleniem stawów, u których stwierdzono niewystarczającą odpowiedź na leczenie lub nietolerancję innych leków modyfikujących proces zapalny, w tym jednego lub kilku inhibitorów czynnika martwicy nowotworów
- d) w skojarzeniu z glikokortykosteroidami jest wskazany w leczeniu dorosłych pacjentów z ciężką, aktywną ziarniniakowatością z zapaleniem naczyń i mikroskopowym zapaleniem naczyń
- e) jest wskazany w leczeniu pacjentów z pęcherzycą zwykłą o nasileniu umiarkowanym do ciężkiego

Mechanizm działania:

Domena Fab cząsteczki rytuksymabu wiąże się z antygenem CD20 na limfocytach B i poprzez domenę Fc uruchamia mechanizmy układu odpornościowego prowadzące do lizy komórek B (Rys. 12). Do prawdopodobnych mechanizmów lizy komórek należy cytotoksyczność zależna od układu dopełniacza (CDC), związana z przyłączeniem składnika C1q, oraz cytotoksyczność komórkowa zależna od przeciwciał (ADCC), której mediatorami jest jeden lub kilka rodzajów receptorów Fc γ R, znajdujących się na powierzchni granulocytów, makrofagów i komórek NK. Wykazano także, że przyłączenie rytuksymabu do antygeny CD20 na limfocytach B indukuje śmierć komórki na drodze apoptozy.

2.5. Przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi CD30

Antygen CD30 należy do dużej rodziny białek będących receptorami dla czynników martwicy nowotworów i podlega nadmiernej ekspresji na powierzchni komórek nowotworowych u pacjentów z chłoniakiem Hodgkina (ang. *Hodgkin's lymphoma* HL) oraz anaplastycznym chłoniakiem olbrzymiokomórkowym (ang. *anaplastic large-cell lymphoma* – ALCL).

Brentuksymab vedotin

lek oryginalny: Adcetris [25]

data rejestracji: 2011

Budowa i pochodzenie:

Brentuksymab vedotin jest przeciwciałem zbudowany z 3 elementów. Chimerycznego przeciwciała cAC10 klasy IgG1 γ skierowanego przeciwko CD30, produkowanego w komórkach jajników chomika chińskiego za pomocą technologii rekombinacji DNA, cytostatyku - jednometylowanej aurystatyny E (MMAE) działającej na mikrotubule oraz kowalencyjnie związanego łącznika peptydowego, który może być przecięty przez proteazę.

Wskazania do stosowania:

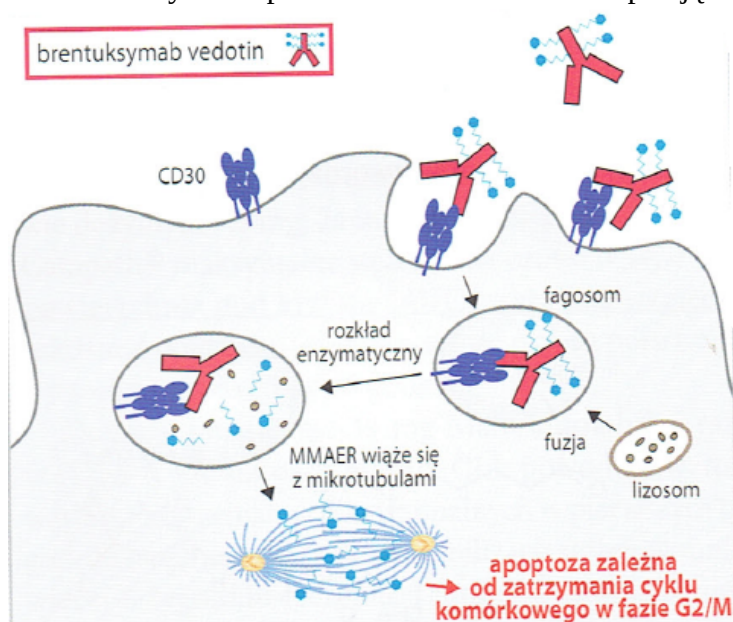
Brentuksymab vedotin jest wskazany do stosowania u wcześniej nieleczonych dorosłych pacjentów z chłoniakiem ziarniczym (chłoniakiem Hodgkina, *ang. Hodgkin's lymphoma*) CD30+ w IV stadium zaawansowania choroby w skojarzeniu z doksorubicyną, winblastyną i dakarbazyną (AVD) oraz w leczeniu dorosłych pacjentów z chłoniakiem CD30+, u których występuje zwiększone ryzyko nawrotu lub progresji choroby po autologicznym przeszczepieniu komórek macierzystych (*ang. autologous stem cell transplant, ASCT*). Jest ono także wskazane w leczeniu dorosłych pacjentów z nawrotowym lub opornym na leczenie chłoniakiem ziarniczym CD30+ po ASCT lub po co najmniej dwóch wcześniejszych terapiach, w przypadku, gdy ASCT lub wielolekowa chemioterapia nie stanowią opcji leczenia.

Brentuksymab vedotin podaje się w skojarzeniu z cyklofosfamidem, doksorubicyną i prednizonem (CHP) u wcześniej nieleczonych dorosłych pacjentów z układowym chłoniakiem anaplastycznym z dużych komórek (*ang. systemic anaplastic large cell lymphoma, sALCL*).

Przeciwciało to jest również wskazane u dorosłych pacjentów ze skórny chłoniakiem T-komórkowym CD30+ (*ang. cutaneous T-cell lymphoma, CTCL*), u których stosowano uprzednio co najmniej jedno leczenie systemowe.

Mechanizm działania:

Brentuksymab vedotin stanowi kompleks trzech elementów (ADC)- przeciwciała, leku i łącznika. Transportuje on lek przeciwnowotworowy powodujący wybiórczo apoptozę komórek nowotworowych bezpośrednio do komórek z ekspresją CD30.



Rys. 13. Mechanizm działania brentuksymabu vedotin [7]

Dane niekliniczne sugerują, że aktywność biologiczna brentuksymabu vedotin wynika z procesu wielostopniowego. Wiązanie ADC do CD30 na powierzchni komórek zapoczątkowuje internalizację kompleksu ADC-CD30, który następnie przenika do przestrzeni lizosomalnej. W obrębie komórki poprzez rozkład proteolityczny uwalniana jest pojedyncza substancja czynna

MMAE. Wiązanie MMAE z tubuliną rozrywa sieć mikrotubuli w obrębie komórki, indukuje zatrzymanie cyklu komórkowego i powoduje apoptozę komórek (Rys. 13). Ze względu na mechanizm działania skierowany przeciwko CD30 brentuksymab vedotin może przewyciężyć chemiooporność, gdyż u pacjentów opornych na wielolekową chemioterapię, niezależnie od ewentualnego wcześniejszego przeszczepienia ekspresja CD30 jest stała. Nie wyklucza się, że do mechanizmu działania mogą przyczyniać się inne funkcje związane z przeciwciałem.

2.6. Przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi CD38

Antygen CD38 jest białkiem błonowym występującym powszechnie na różnych komórkach, głównie pochodzących z linii limfoidalnej, przy czym poziom ekspresji tej cząsteczki zmienia się istotnie w zależności od etapu różnicowania danej komórki. Ekspresję CD38 opisano m.in. na limfocytach B, limfocytach T, komórkach NK, monocytach oraz komórkach dendrytycznych. Pod względem struktury chemicznej CD38 jest jednołańcuchową glikoproteiną typu II o ciężarze cząsteczkowym 45 kDa. CD38 charakteryzuje się zdolnością do agregacji i tworzenia dimerów i tetrametrów, znana jest również postać rozpuszczalna tej cząsteczki stwierdzana w płynach fizjologicznych [26].

Daratumumab

lek oryginalny: Darzalex [27]

Budowa i pochodzenie:

Daratumumab jest ludzkim monoklonalnym przeciwciałem IgG1κ przeciw antygenowi CD38, produkowanym w linii komórkowej ssaków (jajnika chomika chińskiego) z zastosowaniem technologii rekombinacji DNA.

Wskazania do stosowania:

Daratumumab stosuje się:

- w skojarzeniu z lenalidomidem i deksametazonem lub z bortezomibem, melfalanem i prednizonem, w leczeniu dorosłych pacjentów z nowo rozpoznany szpiczakiem mnogim, którzy nie kwalifikują się do autologicznego przeszczepienia komórek macierzystych,
- w skojarzeniu z bortezomibem, talidomidem i deksametazonem w leczeniu dorosłych pacjentów z nowo rozpoznany szpiczakiem mnogim, którzy kwalifikują się do autologicznego przeszczepienia komórek macierzystych,
- w skojarzeniu z lenalidomidem i deksametazonem lub bortezomibem i deksametazonem, w leczeniu dorosłych pacjentów ze szpiczakiem mnogim, którzy otrzymali co najmniej jedną wcześniejszą terapię,
- w monoterapii u dorosłych pacjentów z nawrotowym i opornym na leczenie szpiczakiem mnogim, których wcześniejsze leczenie obejmowało inhibitor proteasomu i lek immunomodulujący i u których nastąpiła progresja choroby w trakcie ostatniego leczenia.

Mechanizm działania:

Daratumumab łączy się z białkiem CD38, prezentowanym w dużej ilości na powierzchni komórek nowotworowych szpiczaka mnogiego, a także na innych rodzajach komórek i tkanek w różnych poziomach. Białko CD38 ma wiele funkcji, takich jak: receptor pośredniczący w adhezji komórek, przenoszenie sygnałów i aktywność enzymatyczna. Daratumumab wykazał w warunkach *in vivo* silne hamowanie wzrostu komórek nowotworowych z ekspresją CD38. Na podstawie badań *in vitro* stwierdzono, że daratumumab może wykorzystywać wiele funkcji efektorowych, powodując śmierć komórek nowotworowych za pośrednictwem układu immunologicznego. Te badania wskazują, że daratumumab może indukować lizę komórek nowotworowych za pomocą cytotoksyczności zależnej od układu dopełniacza, cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał i fagocytozy komórek zależnej od przeciwciał w komórkach nowotworowych z ekspresją CD38.

Daratumumab indukuje apoptozę w warunkach *in vitro* po wiązaniu krzyżowym z udziałem receptora dla Fc. Ponadto, daratumumab moduluje aktywność enzymatyczną CD38, hamując aktywność cyklazy i stymulując aktywność hydrolazy. Znaczenie tych działań *in vitro* nie jest do końca poznane w warunkach klinicznych, ani nie wiadomo jaki jest ich wpływ na rozwój komórek nowotworowych.

2.7 Przeciwciała skierowane przeciwko receptorowi CD279/PD-1

Receptor CD279/PD-1 tzw. receptor programowanej śmierci (PD-1) jest immunoreceptorem ulegającym indukowanej ekspresji zarówno na limfocytach T i B. Pełni on funkcję negatywnego regulatora odpowiedzi immunologicznej, należy do rodziny cząsteczek antygeny CD28. Ze względu na oddziaływanie ze swoimi ligandami: PD-L1 oraz PD-L2, wykazującymi ekspresję w wielu typach tkanek, PD-1 jest odpowiedzialny za podtrzymanie tolerancji obwodowej poprzez ograniczanie aktywacji, proliferacji i funkcji efektorowych limfocytów T. Zaburzenia funkcjonowania szlaku PD-1/PD-L prowadzą do rozwoju chorób autoimmunologicznych i są obserwowane na „wyczerpanych” limfocytach w przewlekłych infekcjach wirusowych. Wysoka ekspresja liganda i/lub pobudzenie ekspresji receptora PD-1 może hamować odpowiedź przeciwnowotworową, dodatkowo wysoki poziom ekspresji PD-1 promuje utrzymywanie się ognisk przewlekłego zapalenia w organizmie i tolerancji na obce antygeny przyczyniając się do rozwoju procesu nowotworowego. Zwiększenie ekspresji PD-1 także może być związane z ucieczką komórek nowotworowych spod nadzoru układu immunologicznego. Bardzo istotne znaczenie szlaku PD-1/PD-L wynika z faktu jego powszechnej ekspresji w organizmie i dużej możliwości indukcji co zdecydowanie wyróżnia receptor PD-1 na tle innych cząsteczek z rodziny CD28 [28]. Dotychczasowe badania wskazują na potencjalne zastosowanie terapeutyczne szlaku PD-1/PD-L także w nowotworach hematologicznych [29].

Nivolumab

lek oryginalny: Opdivo [30]

data rejestracji: 2015

Budowa i pochodzenie:

Nivolumab jest ludzkim przeciwciałem monoklonalnym, należącym do klasy immunoglobulin IgG4. Wytwarzany jest przez komórki jajnika chomika chińskiego z wykorzystaniem technologii rekombinacji DNA.

Wskazania do stosowania:

Nivolumab stosuje się w leczeniu:

- czerniaka zaawansowanego (nieoperacyjnego lub przerzutowego) u dorosłych w monoterapii lub w skojarzeniu z ipilimumabem
- w monoterapii jest wskazany do leczenia uzupełniającego czerniaka z zajęciem węzłów chłonnych lub z przerzutami, u dorosłych po całkowitej resekcji.
- w skojarzeniu z ipilimumabem i 2 cyklami chemioterapii opartej na pochodnych platyny jest wskazany do leczenia pierwszej linii niedrobnokomórkowego raka płuca z przerzutami u dorosłych, u których w tkance nowotworowej nie występują mutacje aktywujące w genie EGFR lub translokacje w genie ALK.
- w monoterapii jest wskazany w leczeniu miejscowo zaawansowanego lub z przerzutami niedrobnokomórkowego raka płuca po wcześniejszej chemioterapii u dorosłych.
- w monoterapii jest wskazany do leczenia zaawansowanego raka nerkowokomórkowego (*ang. renal cell carcinoma, RCC*) po wcześniejszym leczeniu u dorosłych.
- w skojarzeniu z ipilimumabem jest wskazany do leczenia pierwszej linii zaawansowanego raka nerkowokomórkowego, u dorosłych pacjentów z pośrednim lub niekorzystnym rokowaniem

- w monoterapii jest wskazany w leczeniu dorosłych pacjentów z nawrotowym lub opornym na leczenie klasycznym chłoniakiem Hodgkina (*ang. classical Hodgkin lymphoma, cHL*) po autologicznym przeszczepieniu komórek macierzystych szpiku (*ang. autologous stem cell transplant, ASCT*) i leczeniu brentuksymabem z wedotyną.
- w monoterapii jest wskazany w leczeniu nawrotowego lub z przerzutami płaskonabłonkowego raka głowy i szyi (*ang. squamous cell cancer of the head and neck, SCCHN*), który uległ progresji podczas lub po zakończeniu terapii opartej na pochodnych platyny u dorosłych.
- w monoterapii jest wskazany w leczeniu nieoperacyjnego raka urotelialnego miejscowo zaawansowanego lub z przerzutami u dorosłych po niepowodzeniu wcześniejszej terapii opartej na pochodnych platyny.
- w monoterapii jest wskazany w leczeniu dorosłych pacjentów z zaawansowanym nieoperacyjnym, nawrotowym lub z przerzutami płaskonabłonkowym rakiem przełyku (*ang. oesophageal squamous cell carcinoma, OSCC*) po wcześniejszej chemioterapii skojarzonej opartej na fluoropirymidynie i pochodnych platyny.

Mechanizm działania:

Niwolumab wiąże się z receptorem programowanej śmierci-1 (PD-1) i blokuje jego oddziaływanie z ligandami PD-L1 i PD-L2. Receptor PD-1 jest ujemnym regulatorem aktywności limfocytów T i wykazano, że uczestniczy w kontroli odpowiedzi immunologicznej ze strony limfocytów T. Przyłączenie się do receptora PD-1 ligandów PD-L1 i PD-L2, które są obecne na komórkach prezentujących przeciwciała i mogą ulegać ekspresji w komórkach nowotworów lub w innych komórkach występujących w mikrośrodowisku guza, powoduje zahamowanie proliferacji limfocytów T oraz wydzielania cytokin. Niwolumab nasila odpowiedź limfocytów T, w tym odpowiedź przeciwnowotworową, poprzez zablokowanie przyłączania się ligandów PD-L1 i PD-L2 do receptora PD-1. W modelach myszy syngenicznych zablokowanie aktywności receptora PD-1 powodowało zmniejszenie wzrostu guza. Skojarzone działanie hamujące niwolumabu (anty-PD-1) i ipilimumabu (anty-CTLA-4) powoduje lepszą odpowiedź przeciwnowotworową w czerniaku z przerzutami. W mysich syngenicznych modelach nowotworów podwójna blokada PD-1 i CTLA-4 skutkowałą synergistycznym działaniem przeciwnowotworowym.

Pembrolizumab

lek oryginalny: Keytruda [31]

data rejestracji: 2014

Budowa i pochodzenie:

Pembrolizumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym będącym immunoglobuliną klasy IgG4κ ze stabilizującą modyfikacją sekwencji regionu Fc. Wytwarzany jest metodą rekombinacji DNA w komórkach jajnika chomika chińskiego.

Wskazania do stosowania:

Pembrolizumab jest wskazany:

- w monoterapii w leczeniu zaawansowanego (nieoperacyjnego lub z przerzutami) czerniaka u osób dorosłych.
- w monoterapii w leczeniu adjuwantowym czerniaka stopnia III z zajęciem węzłów chłonnych, po całkowitej resekcji
- w monoterapii w leczeniu pierwszego rzutu niedrobnokomórkowego raka płuca z przerzutami u osób dorosłych, u których odsetek komórek nowotworowych z ekspresją PD-L1 w tkance nowotworowej (*ang. TPS, tumour proportion score*) wynosi $\geq 50\%$ i nie występują dodatnie wyniki mutacji genu EGFR lub ALK w tkance nowotworowej.
- w skojarzeniu z pemetreksedem i chemioterapią opartą na pochodnych platyny w leczeniu pierwszego rzutu niepłaskonabłonkowego niedrobnokomórkowego raka płuca z przerzutami

- u osób dorosłych, u których nie występują dodatnie wyniki mutacji genu EGFR lub rearanżacja w genie ALK w tkance nowotworowej.
- w skojarzeniu z karboplatiną i paklitakselem lub nab-paklitakselem w leczeniu pierwszego rzutu płaskonabłonkowego niedrobnokomórkowego raka płuca z przerzutami u osób dorosłych.
 - w monoterapii w leczeniu niedrobnokomórkowego raka płuca miejscowo zaawansowanego lub z przerzutami u osób dorosłych z ekspresją PD-L1 w tkance nowotworowej z TPS $\geq 1\%$, u których zastosowano wcześniej przynajmniej jeden schemat chemioterapii. U pacjentów z dodatnim wynikiem mutacji genu EGFR lub ALK w tkance nowotworowej, przed podaniem należy również zastosować terapię celowaną.
 - w monoterapii w leczeniu dorosłych pacjentów z nawrotowym lub opornym na leczenie klasycznym chłoniakiem Hodgkina po niepowodzeniu autologicznego przeszczepienia komórek macierzystych (*ang. autologous stem cell transplant, ASCT*) i leczeniu brentuksymabem z wedotyną, lub pacjentów, którzy nie zostali zakwalifikowani do przeszczepienia i przeszli nieudaną terapię brentuksymabem z wedotyną.
 - w monoterapii w leczeniu raka urotelialnego miejscowo zaawansowanego lub z przerzutami u osób dorosłych, u których zastosowano wcześniej chemioterapię zawierającą pochodne platyny
 - w monoterapii w leczeniu raka urotelialnego miejscowo zaawansowanego lub z przerzutami u osób dorosłych, które nie mogą zostać zakwalifikowane do chemioterapii zawierającej cisplatynę i u których łączny wynik pozytywny (*ang. Combined Positive Score, CPS*) z ekspresją PD-L1 w tkance nowotworowej wynosi ≥ 10
 - w monoterapii lub w skojarzeniu z chemioterapią opartą na pochodnych platyny i 5-fluorouracylu w leczeniu pierwszego rzutu nawrotowego raka płaskonabłonkowego głowy i szyi z przerzutami lub nieoperacyjnego u osób dorosłych, u których CPS z ekspresją PD-L1 w tkance nowotworowej wynosi ≥ 1
 - w monoterapii w leczeniu płaskonabłonkowego raka głowy i szyi nawrotowego lub z przerzutami u osób dorosłych z ekspresją PD-L1 z TPS $\geq 50\%$ w tkance nowotworowej i progresją nowotworu w trakcie chemioterapii zawierającej pochodne platyny lub po jej zakończeniu
 - w skojarzeniu z aksytynibem w leczeniu pierwszego rzutu zaawansowanego raka nerkowokomórkowego u osób dorosłych

Mechanizm działania:

Pembrolizumab wiąże się z receptorem programowanej śmierci komórki 1 (PD-1) i blokuje jego interakcję z ligandami PD-L1 i PD-L2. Receptor PD-1 jest negatywnym regulatorem aktywności limfocytów T i wykazano, że jest zaangażowany w kontrolowanie odpowiedzi immunologicznej limfocytów T. Przeciwciało to wzmacnia odpowiedź limfocytów T, w tym odpowiedź przeciwnowotworową, poprzez zahamowanie wiązania PD-1 z PD-L1 i PD-L2, które ulegają ekspresji na komórkach prezentujących antygen i mogą ulegać ekspresji na komórkach nowotworowych oraz innych komórkach w mikrośrodkowisku guza.

2.8. Przeciwciała skierowane przeciwko białku CD274/PDL-1

Białko PDL-1 jest ligandem dla receptora PD-1, czyli receptora programowanej śmierci. Jak wcześniej opisano zaburzenia funkcjonowania szlaku PD-1/PD-L prowadzą do rozwoju chorób autoimmunologicznych i są obserwowane na „wyczerpanych” limfocytach w przewlekłych infekcjach wirusowych. Wysoka ekspresja liganda jak i receptora spotykana jest w wielu typach nowotworów.

Awelumab

lek oryginalny: Bavencio [32]

data rejestracji: 2017

Budowa i pochodzenie:

Awelumab jest ludzkim przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1 λ skierowanym przeciwko immunomodulującemu ligandowi białka powierzchniowego PD-L1 wytwarzanym w komórkach jajnika chomika chińskiego metodą rekombinacji DNA.

Wskazania do stosowania:

Awelumab jest wskazany w monoterapii u dorosłych pacjentów z przerzutowym rakiem z komórek Merkla (*ang. Merkel Cell Carcinoma, MCC*). Stosowany jest także w skojarzeniu z aksytynibem jako leczenie pierwszego rzutu u dorosłych pacjentów z zaawansowanym rakiem nerkowokomórkowym (*ang. renal cell carcinoma, RCC*).

Mechanizm działania:

Awelumab wiąże się z PD-L1 i blokuje interakcję między PD-L1 (ligandem), a receptorem programowanej śmierci typu 1 (PD-1) i receptorami B7.1. Prowadzi to do zniesienia działania hamującego PD-L1 na cytotoksyczne limfocyty T CD8+, powodując przywrócenie odpowiedzi przeciwnowotworowej limfocytów T. Wykazano również, że awelumab pobudza lizę pierwotnych komórek guza z udziałem komórek NK – w mechanizmie cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (*ang. antibody -dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC*).

Atezolizumab

lek oryginalny: Tecentriq [33]

data rejestracji: 2016

Budowa i pochodzenie:

Atezolizumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1 o zmodyfikowanym regionie Fc, skierowanym przeciwko ligandowi receptora programowanej śmierci 1 (PD-L1), wytwarzanym przez komórki jajnika chomika chińskiego z zastosowaniem technologii rekombinacji DNA.

Wskazania do stosowania:

Atezolizumab jest wskazany w monoterapii w leczeniu dorosłych pacjentów z miejscowo zaawansowanym lub rozsiałym rakiem urotelialnym (UC) oraz w monoterapii w leczeniu dorosłych pacjentów z miejscowo zaawansowanym lub rozsiałym niedrobnokomórkowym rakiem płuc (NDRP)

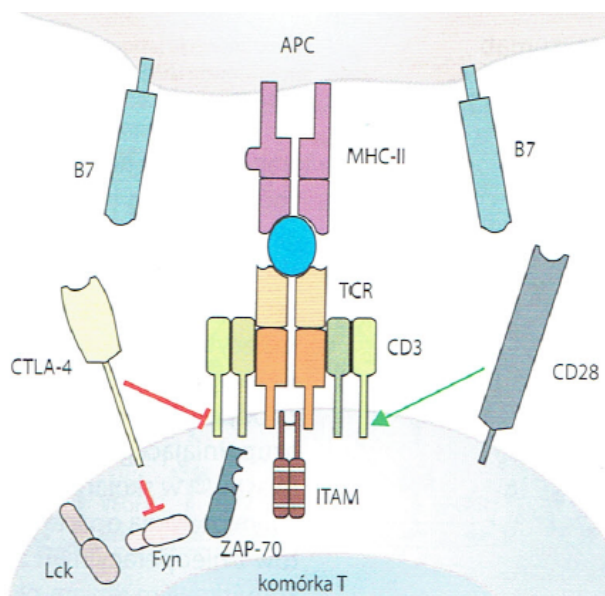
Mechanizm działania:

Ekspresja liganda receptora programowanej śmierci komórki typu 1 (PD-L1) może występować na komórkach guza i (lub) na komórkach układu immunologicznego naciekających guz, przyczyniając się do zahamowania przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej w mikrośrodowisku guza. Wiązanie PD-L1 z receptorami PD-1 i B7.1 znajdującymi się na komórkach T i komórkach prezentujących antygen hamuje cytotoksyczne działanie limfocytów T, proliferację limfocytów T i wytwarzanie cytokin. Atezolizumab wiążąc się bezpośrednio z PD-L1 co zapewnia podwójną blokadę dla receptorów PD-1 i B7.1 i uwalnia zahamowaną odpowiedź immunologiczną występującą za pośrednictwem PD-L1/PD-1, w tym reaktywację przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej bez wywoływania działań cytotoksycznych zależnych od przeciwciał. Atezolizumab nie wpływa na interakcję PD-L2/PD-1, co pozwala na utrzymywanie się sygnałów hamujących występujących za pośrednictwem PD-L2/PD-1

2.9. Przeciwciała skierowane przeciwko białku CTLA4/CD152

CTLA-4 jest to antygen-4 cytotoksycznych limfocytów T. Stanowi on podstawowy regulator aktywności limfocytów T. CTLA-4 pojawia się na powierzchni limfocytów T aktywowanych w wyniku kontaktu z antygenem i działa hamująco na dalszą odpowiedź limfocyty. W ten sposób

CTLA-4 stanowi sygnał ujemnego sprzężenia zwrotnego w swoistej odpowiedzi odpornościowej, nie dopuszczając do jej nadmiernego rozwoju. Związanie CTLA-4 prowadzi do inaktywacji komórki T poprzez różne szlaki sygnałowe.



Rys. 14. Mechanizm działania CTLA-4 [7]

Ipilimumab

lek oryginalny: Yervoy [34]

data rejestracji: 2011

Budowa i pochodzenie:

Ipilimumab jest ludzkim przeciwciałem monoklonalnym anti-CTLA-4 należącym do klasy IgG1κ. Wytwarzany przez komórki jajnika chomika chińskiego w technologii rekombinacji DNA.

Wskazania do stosowania:

Ipilimumab jest stosowany:

- w monoterapii w leczeniu zaawansowanego czerniaka (nieoperacyjnego lub z przerzutami) u dorosłych i młodzieży w wieku 12 lat i powyżej
- w skojarzeniu z niwolumabem w leczeniu zaawansowanego czerniaka (nieoperacyjnego lub przerzutowego) u dorosłych.
- w skojarzeniu z niwolumabem w leczeniu pierwszej linii zaawansowanego raka nerkowokomórkowego, u dorosłych pacjentów z pośrednim lub niekorzystnym rokowaniem
- w skojarzeniu z niwolumabem i dwoma cyklami chemioterapii opartej na pochodnych platyny w leczeniu pierwszej linii niedrobnokomórkowego raka płuca (NDRP) z przerzutami u dorosłych, u których w tkance nowotworowej nie występują mutacje aktywujące w genie EGFR lub translokacje w genie ALK.

Mechanizm działania:

Ipilimumab jest inhibitorem immunologicznego punktu kontrolnego CTLA-4, który blokuje hamujące sygnały dla limfocytów T, indukowane drogą CTLA-4. Zablockowanie tego punktu powoduje zwiększenie liczby aktywowanych limfocytów T efektorowych, które mobilizują limfocyty T do bezpośredniego ataku immunologicznego przeciwko komórkom nowotworowym. Blokada CTLA-4 może również zmniejszać czynność regulacyjną limfocytów T, która może brać udział w odpowiedzi immunologicznej przeciwko guzowi. Ipilimumab może selektywnie zmniejszać liczbę limfocytów T regulatorowych w guzie, prowadząc do zwiększenia proporcji limfocytów T efektorowych do limfocytów T regulatorowych wewnątrz guza, co powoduje śmierć komórek nowotworowych.

2.10. Przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi GD2

Antygen GD2 jest ugrupowaniem węglowodanowym disialogangliozydu-2. Jest to antygen prezentowany w komórkach pochodzenia neuroektodermalnego, występujący jedynie na powierzchni błony komórkowej neuronów i obwodowych włókien nerwowych [35]. Antygen ten charakteryzuje się dużą ekspresją na powierzchni komórek nerwiaka zarodkowego.

Dinutuksymab beta

lek oryginalny: Qarziba [36]

data rejestracji: 2015

Budowa i pochodzenie:

Dinutuksymab beta jest chimerycznym ludzko-mysim przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1, wytwarzanym w hodowli komórek ssaków (jajnika chomika chińskiego, CHO) z zastosowaniem technologii rekombinacji DNA.

Wskazania do stosowania:

Dinutuksymab beta jest wskazany do leczenia nerwiaka zarodkowego wysokiego ryzyka u pacjentów w wieku 12 miesięcy i starszych, którzy wcześniej otrzymali chemioterapię indukcyjną z przynajmniej częściową odpowiedzią, a następnie terapię mieloablacyjną oraz przeszczepienie komórek macierzystych. Ma on także zastosowanie u pacjentów z nawrotowym lub opornym na leczenie nerwiakiem zarodkowym w wywiadzie, z chorobą resztkową lub bez. Przed leczeniem nawrotowego nerwiaka zarodkowego aktywnie postępującą chorobę należy ustabilizować przy pomocy innych znanych metod.

U pacjentów z nawrotową/oporną na leczenie chorobą w wywiadzie oraz u pacjentów, którzy nie uzyskali całkowitej odpowiedzi na leczenie po terapii pierwszej linii, dinutuximab beta należy podawać w skojarzeniu z interleukiną-2 (IL-2).

Mechanizm działania:

Dinutuksymab beta łączy się w warunkach *in vitro* z liniami komórek nerwiaka zarodkowego, o których wiadomo, że wykazują ekspresję GD2 i powoduje on zarówno cytotoksyczność zależną od dopełniacza (CDC), jak i cytotoksyczność komórkową zależną od przeciwciał (ADCC). W obecności ludzkich komórek efektorowych, w tym jądrzastych komórek krwi obwodowej i granulocytów od zdrowych dawców ludzkich, dinutuksymab beta pośredniczy w niszczeniu linii komórkowych nerwiaka zarodkowego i czerniaka w sposób zależny od dawki.

Ponadto, w badaniach *in vivo* wykazano, że dinutuksymab beta pozwala na zahamowanie przerzutów do wątroby na syngenicznym mysim modelu przerzutów do wątroby.

Neurotoksyczność związana z dinutuksymabem beta wynika prawdopodobnie z indukcji allodynii mechanicznej, na którą wpływać może reaktywność dinutuksymabu beta wobec antygeny GD2 występującego na powierzchni obwodowych włókien nerwowych i mieliny.

2.11. Przeciwciała skierowane przeciwko receptorowi HER-2

HER-2 jest białkiem stanowiącym ludzki receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu 2 (*ang. human growth factor receptor 2*) należącego do rodziny receptorów ErbB (HER). Są to receptory mające tylko jedną domenę przezbłonową, które po aktywacji przez ligandy uzyskują aktywność kinazy tyrozynowej. Nadekspresję białka HER2 stwierdza się w przypadku 20-30% wszystkich pierwotnych raków piersi. Wynika to z masywnej amplifikacji obszarów DNA kodujących białko HER2.

Transtuzumab

lek oryginalny: Herceptin [37]

leki biopodobne: Herzuma, Kanjinti, Ogivri, Ontruzant, Trazimera, Zercepac

data rejestracji: 1998

Budowa i pochodzenie:

Trastuzumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym typu IgG1 produkowanym w zawiesinie kultur komórkowych ssaków (komórek jajnika chomika chińskiego).

Wskazania do stosowania:

Trastuzumab jest wskazany w leczeniu dorosłych pacjentów z HER2 dodatnim rakiem piersi z przerzutami:

- w monoterapii do leczenia tych pacjentów, którzy otrzymali dotychczas co najmniej dwa schematy chemioterapii z powodu choroby nowotworowej z przerzutami. Uprzednio stosowane schematy chemioterapii muszą zawierać przynajmniej antracykliny i taksany, o ile nie było przeciwwskazań do tego typu leczenia. U pacjentów z dodatnim wynikiem badania na obecność receptorów hormonalnych, u których nie powiodła się hormonoterapia, o ile nie było przeciwwskazań do tego typu leczenia.
- w skojarzeniu z paklitakselem do leczenia tych pacjentów, którzy nie otrzymywali dotychczas chemioterapii z powodu choroby nowotworowej z przerzutami i dla których antracykliny są niewskazane.
- w skojarzeniu z docetakselem do leczenia tych pacjentów, którzy nie otrzymywali dotychczas chemioterapii z powodu choroby nowotworowej z przerzutami.
- w skojarzeniu z inhibitorem aromatazy do leczenia pacjentek po menopauzie, z dodatnim wynikiem badania na obecność receptorów hormonalnych, u których doszło do rozwoju choroby nowotworowej z przerzutami, nieleczonych wcześniej trastuzumabem

Trastuzumab jest wskazany do leczenia dorosłych pacjentów z HER2+ rakiem piersi we wczesnym stadium:

- po operacji, chemioterapii (neoadjuwantowej lub adjuwantowej) oraz radioterapii (jeżeli jest stosowana)
- po chemioterapii adjuwantowej z doksorubicyną i cyklofosfamidem, w skojarzeniu z paklitakselem lub docetakselem.
- w skojarzeniu z chemioterapią adjuwantową z użyciem docetakselu i karboplatyny.
- w skojarzeniu z neoadjuwantową chemioterapią i następnie w terapii adjuwantowej opartej o trastuzumab w miejscowo zaawansowanym (w tym zapalnym) raku piersi lub w przypadku guza o średnicy większej niż 2 cm

Trastuzumab w skojarzeniu z kapecytabiną lub 5-fluorouracylem i cisplatyną jest wskazany w leczeniu dorosłych pacjentów z HER2+ gruczolakorakiem żołądka z przerzutami lub połączenia żołądkowo-przełykowego, których nie poddawano wcześniej terapii przeciwnowotworowej z powodu choroby rozsianej

Trastuzumab powinien być stosowany wyłącznie u pacjentów u których stwierdzono, za pomocą odpowiednio walidowanych testów, w komórkach guza, albo nadekspresję receptora HER2 albo amplifikację genu HER2 .

Mechanizm działania:

Trastuzumab wiąże się z dużym powinowactwem i specyficznością z subdomeną IV związaną z błoną w regionie zewnątrzkomórkowej domeny receptora HER2. Związanie trastuzumabu z receptorem HER2 hamuje niezależne od ligandu, przekazywanie sygnału przez HER2 i zapobiega proteolitycznemu rozszczepieniu zewnątrzkomórkowej domeny jako mechanizmowi aktywacji HER2. W rezultacie trastuzumab hamuje proliferację komórek guza, które wykazują nadekspresję receptora HER2, co wykazano zarówno w badaniach *in vitro* jak i u zwierząt. Dodatkowo, trastuzumab jest silnym mediatorem cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC). *In vitro* wykazano, że cytotoksyczność typu ADCC stymulowana trastuzumabem jest preferencyjnie wywierana na komórki guza wykazujące nadekspresję HER2 w porównaniu z komórkami guza bez nadekspresji HER2.

\

Trastuzumab emtansinum (Ado-Trastuzumab emtansinum)

lek oryginalny: Kadcyła [38]

data rejestracji: 2013

Budowa i pochodzenie:

Trastuzumab emtanzyna jest koniugatem przeciwciała z lekiem chemicznym. Zawiera trastuzumab, humanizowane przeciwciało monoklonalne klasy IgG1 wytwarzane w hodowli zawiesiny komórek ssaczych (komórki jajnika chomika chińskiego-CHO) i DM1 (pochodna majtazyny), inhibitor mikrotubul, związane kowalencyjnie poprzez stabilny łącznik tioeterowy MCC (4-[N-maleimidometylo] cykloheksano-1-karboksylan). Emtanzyna jest kompleksem MCC-DM1. Średnio 3,5 cząsteczki DM1 jest sprzężonych z każdą cząsteczką trastuzumabu.

Wskazania do stosowania:

Trastuzumab emtanzyna jest stosowany:

- w monoterapii, w adiuwantowym leczeniu dorosłych pacjentów z HER2+ rakiem piersi we wczesnym stadium, u których występuje inwazyjna choroba resztkowa w piersi i (lub) przerzuty w węzłach chłonnych, po przedoperacyjnej terapii zawierającej taksoid i lek anty-HER2
- w monoterapii, w leczeniu dorosłych pacjentów z HER2+, nieoperacyjnym miejscowo zaawansowanym lub przerzutowym rakiem piersi, poddanych wcześniej terapii trastuzumabem i taksoidem, w połączeniu lub oddzielnie.

Mechanizm działania:

Sprzężenie DM1 z trastuzumabem powoduje selektywne działanie leku cytotoksycznego chemicznego przeciw komórkom nowotworowym wykazującym nadmierną ekspresję HER2, a tym samym zwiększa wewnątrzkomórkowe stężenie DM1 bezpośrednio w komórkach rakowych. Lek po połączeniu z HER2 ulega internalizacji za pośrednictwem receptora, a następnie degradacji lizosomalnej, powodując uwolnienie katabolitów zawierających DM1. Dokładny mechanizm działania koniugatu trastuzumab emtanzyna wynika z aktywności poszczególnych jego części:

- trastuzumab, białkowy składnik koniugatu, łączy się z domeną IV zewnątrzkomórkowej domeny (ECD) receptora, a także z receptorami Fcγ i dopełniaczem C1q. Poza tym hamuje aktywność domeny ECD receptora HER2, hamując przekazywanie sygnału szlaku kinazy 3-fosfatydilinozytolu (PI3-K) i pośredniczy w cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciała (ADCC) w ludzkich komórkach raka piersi wykazujących nadmierną ekspresję HER2.
- DM1, cytotoksyczny składnik koniugatu, łączy się z tubuliną, hamując polimeryzację tubuliny powodując zatrzymanie komórek w fazie G2/M cyklu komórkowego, co ostatecznie prowadzi do śmierci komórek na drodze apoptozy. Wyniki badań przeprowadzonych w warunkach *in vitro* dotyczących wpływu cytotoksycznego wykazały, że DM1 jest 20–200 razy bardziej skuteczny niż taksoidy i alkaloidy vinca.
- łącznik MCC ogranicza ogólnoustrojowe uwalnianie DM1 i zwiększa jego stężenie w miejscu docelowym, co wykazano stwierdzając bardzo małe stężenie wolnego DM1 w osoczu.

Pertuzumab

lek oryginalny: Perjeta [39]

data rejestracji: 2012

Budowa i pochodzenie:

Pertuzumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1 wytwarzanym z zastosowaniem technologii rekombinacji DNA w liniach komórkowych ssaków (komórki jajnika chomika chińskiego).

Wskazania do stosowania:

Pertuzumab jest stosowany:

- w skojarzeniu z trastuzumabem i chemioterapią w w leczeniu neoadjuwantowym dorosłych pacjentów chorych na HER2+ raka piersi, miejscowo zaawansowanego, zapalnego lub we wczesnym stadium z wysokim ryzykiem wznowy oraz w leczeniu adjuwantowym dorosłych pacjentów chorych na HER2+ raka piersi we wczesnym stadium z wysokim ryzykiem wznowy
- w skojarzeniu z trastuzumabem i docetakselem u dorosłych pacjentów chorych na HER2+ raka piersi z przerzutami lub z nieresekcyjną wznową miejscową, którzy nie byli leczeni wcześniej za pomocą terapii przeciw-HER2 lub chemioterapii choroby przerzutowej.

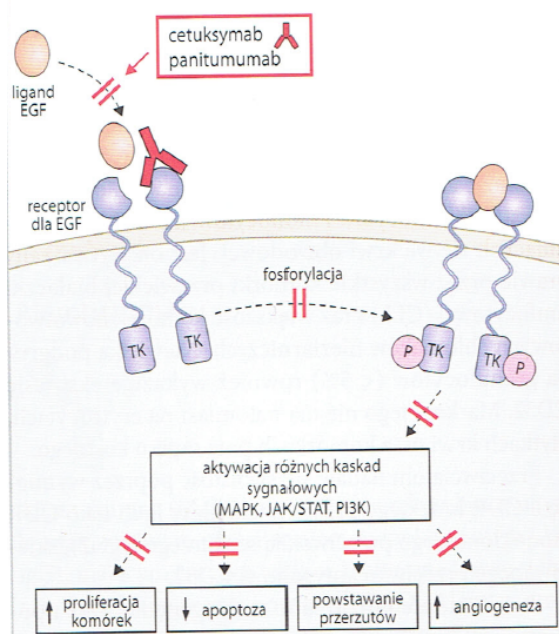
Mechanizm działania:

Pertuzumab jest rekombinowanym, humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym, które jest dokładnie nacelowane na domenę zewnątrzkomórkową dimeryzacji (subdomena II) białka receptora ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER2). Blokuje on zależną od ligandu heterodimeryzację HER2 z innymi członkami rodziny HER, w tym EGFR, HER3 i HER4. W rezultacie tego pertuzumab hamuje sygnalizację wewnątrzkomórkową inicjowaną przez ligand za pomocą dwóch głównych szlaków sygnałowych: kinazy aktywowanej mitogenami (MAP) i kinazy 3-fosfoinozytolowej (PI3K). Hamowanie tych szlaków sygnałowych może powodować odpowiednio zatrzymanie wzrostu komórek i apoptozę. Ponadto pertuzumab pośredniczy w cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC).

Chociaż pertuzumab sam powoduje zahamowanie proliferacji ludzkich komórek nowotworowych, stosowanie pertuzumabu w skojarzeniu z trastuzumabem istotnie zwiększa aktywność przeciwnowotworową w modelach ksenoprzeszczepu z nadmierną ekspresją HER2. Dlatego też w celu ułatwienia prowadzenia farmakoterapii wprowadzono produkt leczniczy stanowiący połączenie transtuzumabu i pertuzumabu o nazwie handlowej **Phesgo** [40]

2.12. Przeciwciała skierowane przeciwko receptorowi EGFR

EGFR (*ang. epidermal growth factor receptor*) jest receptorem nabłonkowego czynnika wzrostu, należy do rodziny receptorów erbB (HER). Jest to receptor posiadający tylko jedną domenę przezbłonową, a po aktywacji przez ligandy ma aktywność kinazy tyrozynowej.



Rys. 15. Mechanizm działania cetuksymabu i panitumumabu (inhibitorów EGFR) [7]

Jego pobudzenie aktywuje złożoną sieć przewodzenia sygnałów, która kontroluje i podtrzymuje wzrost komórki nowotworowej. Odkryto iż mutacje prowadzące do nadekspresji

genów EGFR (np. zwiększona regulacja lub amplifikacja) są istotnie związane z wieloma nowotworami [41]. Nieprawidłowa sygnalizacja komórkowa poprzez EGFR odgrywa również istotną rolę przy rozwoju chorób zapalnych takich jak: łuszczyca, zapalenie skóry, czy miażdżyca tętnic. Ponadto EGFR ma wpływ na zwłóknienie, gojenie ran. Blokowanie receptora EGFR i przez to blokowanie kaskady sygnałowej indukowanej przez ten receptor prowadzi do zahamowania proliferacji komórek, nasilenia apoptozy, zahamowanie czynników angiogenezy i zahamowania powstawanie przerzutów poprzez zahamowanie migracji i inwazji komórkowej (Rys. 15).

Cetuksymab

lek oryginalny: Erbitux [42]

data rejestracji: 2004

Budowa i pochodzenie:

Cetuksymab jest chimerycznym przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1, zawiera 30 % białka mysiego. Wytwarzany jest przez stabilnie transfekowaną mysia linię komórek szpiczaka (Sp2/0). Jest przeciwciałem monoklonalnym skierowanym swoiście przeciwko receptorowi nabłonkowego czynnika wzrostu (EGFR).

Wskazania do stosowania:

Cetuksymab jest wskazany:

- w leczeniu pacjentów z rakiem jelita grubego z przerzutami, wykazującym ekspresję receptora nabłonkowego czynnika wzrostu (EGFR), z genami RAS typu dzikiego, w skojarzeniu z chemioterapią opartą na irynotekanie, w leczeniu pierwszego rzutu w skojarzeniu ze schematem FOLFOX oraz w monoterapii u pacjentów po niepowodzeniu leczenia chemioterapią opartą na oksaliplatynie oraz irynotekanie, i u których występuje nietolerancja irynotekanu.
- w leczeniu pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym w obrębie głowy i szyi, w skojarzeniu z radioterapią w miejscowo zaawansowanej chorobie oraz w skojarzeniu z chemioterapią opartą na platynie w chorobie nawracającej i (lub) z przerzutami.

Mechanizm działania:

Cetuksymab wiąże się z receptorem EGF z powinowactwem od około 5 do 10 razy silniejszym niż jego endogenne ligandy. Blokuje wiązanie endogennych ligandów EGFR, powodując zahamowanie czynności receptora. Indukuje to internalizację receptora i może prowadzić do zmniejszenia jego ekspresji. Następstwem tego jest zahamowanie wewnątrzkomórkowego przewodnictwa sygnałów, zahamowanie progresji cyklu komórkowego, indukcja apoptozy, zahamowanie mechanizmów naprawy DNA, angiogenezy, a także zahamowanie migracji komórek, naciekania komórek oraz powstawania przerzutów (Rys. 15). Cetuksymab działa również na efektorowe komórki cytotoksyczne układu immunologicznego, ukierunkowując je na komórki wykazujące ekspresję EGFR (ADCC).

Ograniczeniem stosowania cetuksymabu jest mutacja w obrębie protoogenu Ki-RAS. Gen ten odgrywa istotną rolę w łańcuchu przewodnictwa sygnału, ale podrzędną wobec EGFR. Mutacja Ki-RAS, głównie w kodonach 12 i 13, wywołująca jego konstytutywną aktywność prowadzi do utraty kontroli nad proliferacją komórek guza przez receptor EGF. W takich sytuacjach leczenie guza z wykorzystaniem cetuksymabu należy uznać za bezpodstawne.

Cetuksymab nie wiąże się z innymi receptorami należącymi do rodziny HER.

Panitumumab

lek oryginalny: Vectibix [43]

data rejestracji: 2006

Budowa i pochodzenie:

Panitumumab to w pełni ludzkie monoklonalne przeciwciało klasy IgG2, wytwarzane z użyciem linii komórkowej ssaków (CHO) za pomocą techniki rekombinacji DNA

Wskazania do stosowania:

Panitumab jest wskazany do stosowania u dorosłych pacjentów z rakiem jelita grubego z przerzutami (*ang. metastatic colorectal cancer*, mCRC) i z genami RAS bez mutacji (typ dziki):

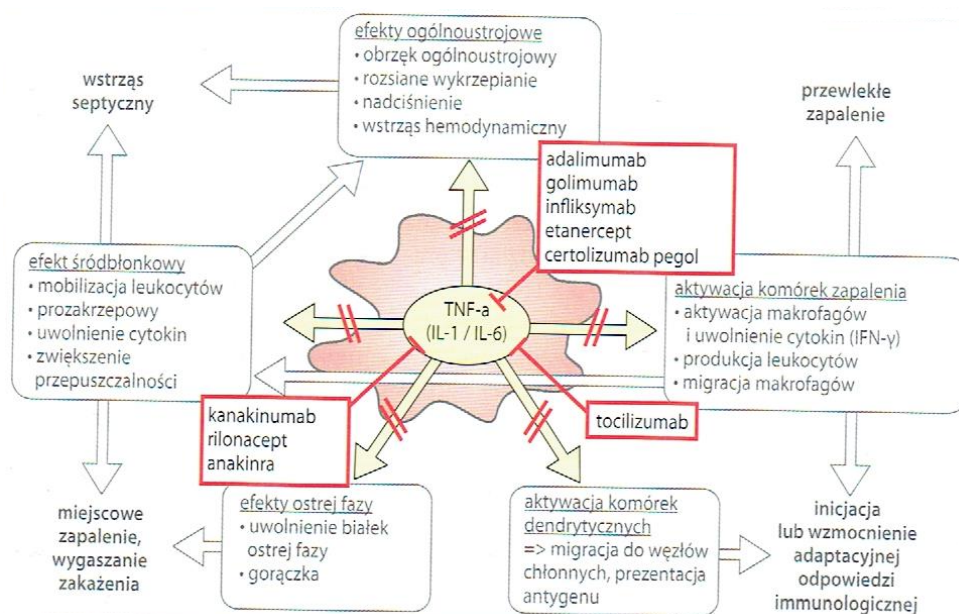
- w pierwszym rzucie w skojarzeniu ze schematem leczenia FOLFOX lub FOLFIRI.
- w drugim rzucie w skojarzeniu ze schematem leczenia FOLFIRI u pacjentów, którzy otrzymywali w pierwszym rzucie chemioterapię opartą na fluoropirymidynie (z wyłączeniem irynotekanu).
- w monoterapii po niepowodzeniu leczenia schematami zawierającymi fluoropirymidynę, oksaliplatinę i irynotekan.

Mechanizm działania:

Panitumumab wiąże się z domeną wiążącą ligand EGFR i hamuje autofosforylację receptora wywoływaną przez wszystkie znane ligandy EGFR (Rys. 15). Wiązanie panitumumabu do EGFR prowadzi do internalizacji receptora, zahamowania wzrostu komórek, indukcji apoptozy oraz zmniejszonej produkcji interleukiny 8 (IL-8) i czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego. Podobnie jak cetuksymab panitumumab nie wykazuje żadnej skuteczności klinicznej w przypadku aktywnej mutacji Ki-RAS, gdyż choć szlak sygnałów zależny od EGFR zostaje zablokowany, to aktywny pozostaje szlak równoległy zależny od Ki-RAS. Natomiast w porównaniu z cetuksymabem lek ten powinien być lepiej tolerowany, gdyż izotyp IgG2 słabiej aktywuje układ dopełniacza i nie wiąże się z monocytami, neutrofilami oraz bazofilami.

2 13. Przeciwciała skierowane przeciwko cytokinie THF-alfa

TNF α (*ang. tumor necrosis factor α*) jest jedną z najważniejszych cytokin modulującą naturalną odporność. Stoi ona na samym szczycie hierarchii cytokin kierujących mechanizmami zachodzącymi w trakcie reakcji zapalnej i w odpowiedzi na zakażenia bakteriami Gram-ujemnymi, a także stanowi ważny element łączący reakcje zapalne i immunologiczne. Jej wiązanie przez przeciwciała prowadzi do zahamowania interakcji cytokiny z odpowiednimi receptorami i zapobiega rozwojowi reakcji zapalnej (Rys. 16). Przeciwciała monoklonalne posiadające własność wiązania TNF α stosowane są jako substancje przeciwzapalne w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów o ciężkim przebiegu, choroby Leśniowskiego-Crohna oraz zeszywniającego zapalenia stawów kręgosłupa.



Rys.16. Mechanizm działania przeciwciał, fragmentów przeciwciał i białek fuzyjnych hamujących reakcje zapalne [7]

Adalimumab

lek oryginalny: Humira [44]

data rejestracji: 2002

leki biopodobne: Hyrimoz, Amgevita, Hulio, Idacio, Imraldi, Amsparity, Cyltezo (bez ważnego pozwolenia), Halimatoz, Hefiya, Imraldi, Kromeja (bez ważnego pozwolenia), Solymbic (bez ważnego pozwolenia)

Budowa i pochodzenie:

Jest to rekombinowane ludzkie przeciwciało monoklonalne klasy IgG1 uzyskiwane przez ekspresję w komórkach CHO (jajnika chomika chińskiego). W odróżnieniu od wielu innych dostępnych przeciwciał nie ma ono sekwencji mysich lub innych gatunków zwierząt. Otrzymywane jest ono metodą fagowej ekspresji peptydów. Podstawę cząsteczki stanowi ludzkie przeciwciało, jednak znacznie zmodyfikowane w warunkach *in vitro*. Pozwoliło to na optymalizację awidności przeciwciała względem swojego celu.

Wskazania do stosowania:

Adalimumab wykazuje szerokie zastosowanie w chorobach o podłożu zapalnym.

Jest on wskazany w :

- reumatoidalnym zapaleniu stawów w skojarzeniu z metotreksatem lub w monoterapii
- młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów
 - wielostawowe młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów w skojarzeniu z metotreksatem lub w monoterapii.
 - zapalenie stawów z towarzyszącym zapaleniem przyczepów ścięgniętych
- osiowej spondyloartropatii
 - zeszywniającym zapaleniu stawów kręgosłupa (ZZSK)
 - osiowej spondyloartropatii bez zmian radiograficznych charakterystycznych dla ZZSK
- łuszczykowym zapaleniu stawów
- łuszczycy
- łuszczycy zwyczajnej (plackowatej) u dzieci i młodzieży
- ropnym zapaleniu apokrynowych gruczołów potowych (Hidradenitis Suppurativa, HS)
- chorobie Leśniowskiego-Crohna u dorosłych i u dzieci i młodzieży
- wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego
- zapalenie błony naczyniowej oka u dorosłych i u dzieci i młodzieży

Mechanizm działania:

Adalimumab wiąże się swoiście z ludzkim czynnikiem martwicy nowotworów (TNF α) i hamuje jego aktywność poprzez blokowanie jego wiązania z receptorami p55 i p75 na powierzchni komórki. Wpływa to również na odpowiedź biologiczną wywoływaną lub regulowaną przez TNF α , w tym zmiany stężenia cząsteczek adhezji międzykomórkowej odpowiedzialnych za migrację leukocytów (ELAM-1, VCAM-1 i ICAM-1). U chorych na RZS po leczeniu adalimumabem występuje szybkie zmniejszenia stężeń czynników ostrej fazy zapalenia (CRP i OB, cytokin (IL-6) i metaloproteinaz macierzy (MMP-1, MMP-3)). Zwykle występuje również poprawa parametrów hematologicznych. U pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna stwierdzono natomiast zmniejszoną ekspresję czynników zapalenia w jelicie grubym (w tym TNF α), a badania endoskopowe błony śluzowej jelit wykazały jej gojenie się.

Golimimumab

lek oryginalny: Simponi [45]

data rejestracji: 2009

Budowa i pochodzenie:

Golimimumab to ludzkie przeciwciało monoklonalne klasy IgG1 κ , wytwarzane przez mysią linię komórkową hybrydoma z użyciem technologii rekombinacji DNA

Wskazania do stosowania:

Golimumab jest wskazany w leczeniu

- wielostawowego młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów w skojarzeniu z metotreksatem (MTX) u dzieci w wieku 2 lat i starszych, u których stwierdzono niedostateczną odpowiedź na wcześniejsze leczenie MTX
- reumatoidalnego zapalenia stawów w skojarzeniu z metotreksatem
- łuszczycowego zapalenia stawów w monoterapii lub w skojarzeniu z metotreksatem
- spondyloartropatii osiowej
- zeszywniającego zapalenia stawów kręgosłupa
- osiowej spondyloartropatii bez zmian radiologicznych
- wrzodziejącego zapalenia jelita grubego

Mechanizm działania:

Golimumab tworzy stabilne kompleksy o dużym powinowactwie zarówno do rozpuszczalnej, jak i przez błonowej postaci ludzkiego czynnika martwicy nowotworu alfa (TNF- α), zapobiegając wiązaniu się TNF- α z jego receptorami. Powoduje to zahamowanie reakcji zapalnej inicjowanej przez TNF α .

Inflixymab

lek oryginalny: Remicade [46]

data rejestracji: 1999

leki biopodobne: Flixabi, Zessly

Budowa i pochodzenie:

Inflixymab jest chimerycznym ludzko-mysim przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1, wytwarzanym przez myszą linię komórkową hybrydoma przy zastosowaniu technologii rekombinacji DNA. W cząsteczce 30% sekwencji aminokwasowej jest pochodzenia mysiego, a 70% ludzkiego.

Wskazania do stosowania:

Infliximab jest wskazany w:

- reumatoidalnym zapaleniem stawów (RZS) w skojarzeniu z metotreksatem
- chorobie Leśniowskiego-Crohna u dorosłych i u dzieci, i młodzieży w wieku od 6 do 17 lat
- we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego u dorosłych i u dzieci, i młodzieży w wieku od 6 do 17 lat
- zeszywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa
- łuszczycowym zapaleniu stawów u dorosłych w skojarzeniu z metotreksatem lub w monoterapii
- w leczeniu umiarkowanej do ciężkiej łuszczycy plackowatej u dorosłych pacjentów

Mechanizm działania:

Inflixymab jest przeciwciałem monoklonalnym, wiążącym się z dużym powinowactwem zarówno z rozpuszczalną, jak i transbłonową formą ludzkiego czynnika martwicy nowotworu alfa (TNF α) ale nie wiążącym się z limfotoksyną (TNF β). Dzięki temu neutralizuje aktywność tej centralnej cytokiny prozapalnej i hamuje procesy zapalne przez nią inicjowane.

2.14. Przeciwciała skierowane przeciwko IL-6.

Interleukina-6 jest pleiotropową prozapalną cytokiną produkowaną przez wiele rodzajów komórek w tym komórki T i B, limfocyty, monocyty i fibroblasty oraz komórki nowotworów. IL-6 bierze udział w różnych procesach fizjologicznych takich jak indukcja wydzielania immunoglobulin, inicjowanie syntezy białek ostrej fazy w wątrobie i stymulowanie proliferacji i różnicowania prekursorów komórek hematopoezy. Nadprodukcja IL-6 w przewlekłych chorobach i nowotworach złośliwych wiąże się niedokrwistością i kacheksją. Przypuszczalnie odgrywa

kluczową rolę w pobudzaniu proliferacji komórek osocza i ujawnianiu się objawów układowych u pacjentów z chorobą Castleman'a.

Siltuksymab

lek oryginalny: Sylvant [47]

data rejestracji: 2014

Budowa i pochodzenie:

Siltuksymab to chimeryczne, ludzko-mysie, przeciwciało monoklonalne typu IgG1κ wytwarzane za pomocą technologii rekombinacji DNA w linii komórkowej z jajników chomika chińskiego (CHO).

Wskazania do stosowania:

Siltuksymab jest wskazany w leczeniu dorosłych pacjentów z wieloogniskową chorobą Castleman'a (*ang. multicentric Castleman's disease, MCD*) niezakażonych ludzkim wirusem niedoboru odporności (HIV) ani ludzkim wirusem opryszczki-8 (HHV-8).

Mechanizm działania:

Siltuksymab charakteryzuje się wysokim powinowactwem do rozpuszczalnej biologicznie czynnej formy ludzkiej IL-6 z którą tworzy stabilne kompleksy. Zapobiega wiązaniu się ludzkiej IL-6 z rozpuszczonymi jak i błonowymi receptorami dla IL-6 (IL-6R), co hamuje tworzenie się heksamerycznego kompleksu sygnałowego gp130 na powierzchni komórki. Powoduje to zahamowanie procesu zapalnego.

2.15. Przeciwciała skierowane przeciwko receptorowi dla IL-6.

Interleukina-6 jest plejotropową cytokiną prozapalną produkowaną przez wiele różnych komórek, w tym limfocyty T i B, monocyty i fibroblasty. IL-6 bierze udział w różnorodnych procesach fizjologicznych takich jak aktywacja limfocytów T, indukcja wydzielania immunoglobulin, indukcja wytwarzania białek ostrej fazy w wątrobie i stymulacja hematopoezy. Odgrywa również rolę w patogenezie chorób, w tym chorób zapalnych, osteoporozy i chorób nowotworowych. Aktywowany przez nią szlak procesów zapalnych wiąże się z interakcją z receptorem dla IL-6 oraz aktywacją białka gp130. Zablockowanie przez przeciwciało monoklonalne receptora dla IL-6 powoduje zablokowanie aktywacji procesów zapalnych mediowanych przez IL-6.

Tocilizumab

lek oryginalny: RoActemra [48]

data rejestracji: 2010

Budowa i pochodzenie:

Tocilizumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1κ skierowanym przeciwko receptorowi dla ludzkiej interleukiny-6 (IL-6). Wytwarzany jest w komórkach jajnika chomika chińskiego (CHO) z zastosowaniem technologii rekombinacji DNA.

Wskazania do stosowania:

Tocilizumab jest wskazany:

- w leczeniu dorosłych pacjentów z czynnym, postępującym reumatoidalnym zapaleniem stawów (RZS) o ciężkim nasileniu, nieleczonych dotychczas za pomocą MTX.
- w leczeniu dorosłych pacjentów z czynnym reumatoidalnym zapaleniem stawów (RZS) o nasileniu umiarkowanym do ciężkiego, u których stwierdzono niewystarczającą odpowiedź na leczenie lub nietolerancję dotychczasowego leczenia jednym lub kilkoma lekami przeciwreumatycznymi modyfikującymi przebieg choroby (*ang. DMARDs*) lub inhibitorami czynnika martwicy nowotworu (*ang. anti-TNF*).
- w leczeniu czynnego młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów o początku uogólnionym (uMIZS) u pacjentów w wieku co najmniej 2 lat, u których stwierdzono

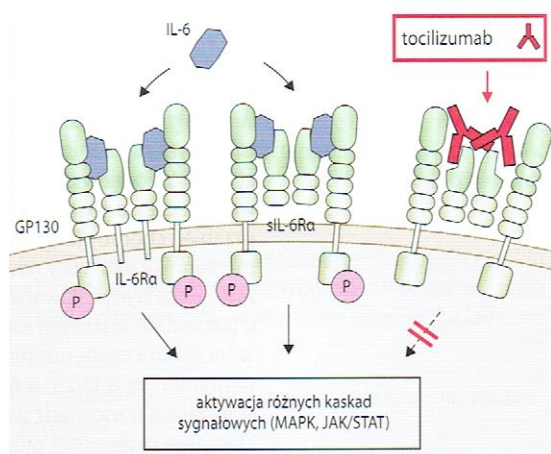
niewystarczającą odpowiedź na leczenie niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi (NLPZ) i kortykosteroidami systemowymi, w monoterapii (w przypadku nietolerancji MTX oraz u pacjentów, u których leczenie MTX nie jest wskazane) lub w skojarzeniu z MTX.

- w leczeniu czynnego wielostawowego młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów może być podawany w monoterapii w przypadku nietolerancji MTX lub u pacjentów, u których kontynuowanie leczenia MTX nie jest wskazane.

Od niedawna wskazaniem pozarejestrycyjnym (*off-label*) jest możliwość stosowania tocilizumabu w leczeniu Covid-19. Liczne badania [49] i zalecenia towarzystw naukowych [50] sugerują, że stosowanie tego przeciwciała zmniejsza ryzyko wystąpienia powikłań, przy stosowaniu dodatkowo ze standardowym leczeniem choroby i zmniejsza prawdopodobieństwo potrzeby zastosowania sztucznej wentylacji. Możliwość zastosowania tocilizumabu w leczeniu infekcji wywołanej wirusem SARS-CoV-2 wynika z możliwości pojawienia się burzy cytokinowej, czyli nadmiernej odpowiedzi układu odpornościowego. Stwierdzono, że dochodzi do znacznego wzrostu stężenia IL-6. Ponieważ tocilizumab blokuje receptory dla IL-6 wydaje się zasadna możliwość jego stosowania w tej chorobie.

Mechanizm działania:

Tocilizumab wiąże się swoiście z receptorami dla interleukiny-6 (sIL-6R i mIL-6R), zarówno rozpuszczalnymi, jak i związanymi z błonami komórkowymi. Hamuje przekazywanie sygnału szlakiem pośredniczonym przez sIL-6R i mIL-6R. Powoduje to zahamowanie kaskady sygnałowej indukowanej IL-6 i przerwanie procesów zapalnych wywołanych przez tą cytokinę (Rys. 17).



Rys.17. Mechanizm działania tocilizumabu [7]

2.16. Przeciwciała skierowane przeciwko IL-1

Interleukina-1 jest to rodzina cytokin prozapalnych. Przeciwciała monoklonalne są skierowane przeciwko IL-1 β . Ten typ IL-1 jest wydzielany do krwi i ma działanie ogólnoustrojowe. W stanie zdrowia cytokiny te występują na niskim poziomie aktywności, zaś w stanie choroby ich aktywność wzrasta co objawia się m.in. gorączką, wysypką, a nawet zapaleniem stawów [51].

Kanakinumab

lek oryginalny: Ilaris [52]

data rejestracji: 2009

Budowa i pochodzenie:

Kanakinumab jest to ludzkie przeciwciało monoklonalne typu IgG1 κ , wytwarzane przez hybrydową linię komórek myszy Sp2/0 w technologii rekombinacji DNA, skierowane przeciwko ludzkiej IL-1 β .

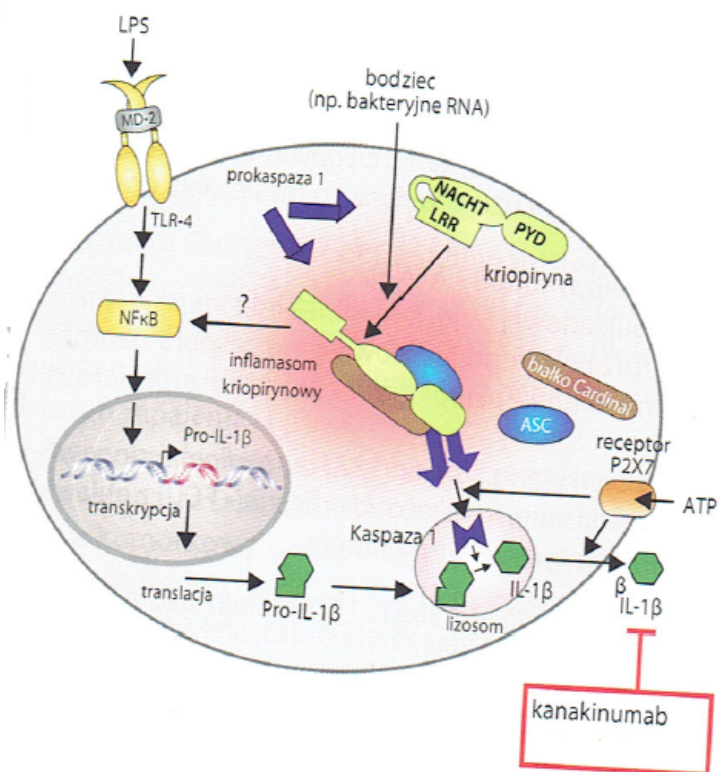
Wskazania do stosowania:

Kanakinumab jest wskazywany:

- w zespołach gorączek nawrotowych dorosłych, młodzieży i dzieci w wieku 2 lat i starszych;
- w okresowych zespołach zależnych od kriopiryny (ang. *Cryopyrin-Associated Periodic Syndromes*, CAPS), m.in.: Zespole Muckle-Wellsa (MWS), noworodkowej zapalnej chorobie wieloukładowej, ostrej postaci rodzinnego, indukowanego zimnem zespołu autoimmunologicznego (FCAS, ang. *Familial Cold Autoinflammatory Syndrome*) / rodzinnej pokrzywki indukowanej zimnem (FCU, ang. *Familial Cold Urticaria*) z objawami innymi niż pokrzywkowa wysypka skórna wywołana zimnem.
- w gorączce okresowej związanej z defektem receptora dla czynnika martwicy nowotworów (TRAPS)
- w zespole hiperimmunoglobulinemii D (HIDS) (niedobór kinazy mewalonowej (MKD))
- w rodzinnej gorączce śródziemnomorskiej (FMF)
- w czynnej postaci choroby Still'a
- w dnawym zapaleniu stawów

Mechanizm działania:

Kanakinumab wykazuje wysokie powinowactwo do ludzkiej IL-1 β . Blokując interakcję IL-1 z jej receptorami. Neutralizuje jej biologiczną aktywność, co zapobiega aktywacji i tym samym wytwarzaniu mediatorów reakcji zapalnej (Rys. 18).



Rys. 18. Związek między kriopiryną a IL-1 β , mechanizm działania kanakinumabu [7]

2.17. Przeciwciała skierowane przeciwko białku VEGF

VEGF (ang. *vascular endothelial growth factor*) naczynio-śródbłonkowy czynnik wzrostu jest homodimeryczną glikoproteiną bogatą w reszty cysteinowe [53]. Posiada on zdolność do wiązania heparyny. Stymuluje waskulogenezę i angiogenezę, a jego wydzielanie jest indukowane hipoksją i mutacjami onkogennymi. Jego nadprodukcja w stanach zapalnych i nowotworowych indukuje zwiększenie dopływu krwi do zmienionych zapalnie i nowotworowo tkanek zapewniając tym samym dostarczanie niezbędnych składników odżywczych dla niekontrolowanego wzrostu.

Bewacizumab

lek oryginalny: Avastin [54]

data rejestracji: 2004

leki biopodobne: Aybintio, Equidacent, Mvasi, Zirabev

Budowa i pochodzenie:

Bewacyzumab jest rekombinowanym, humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym produkowanym z użyciem technologii DNA, w komórkach jajnika chomika chińskiego

Wskazania do stosowania:

Bewacyzumab jest wskazany :

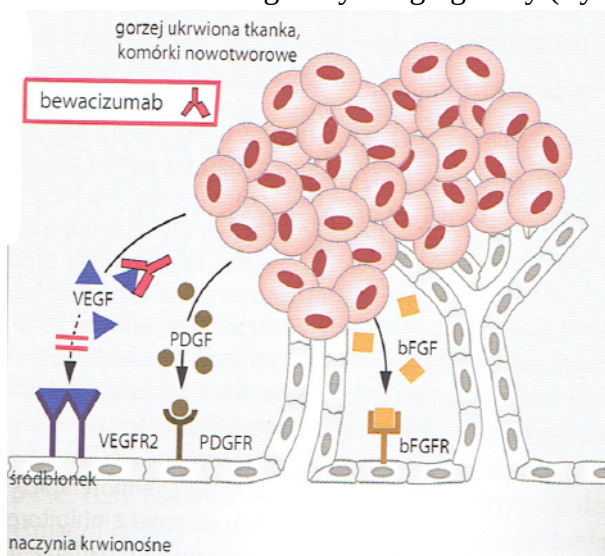
- w skojarzeniu z chemioterapią opartą na fluoropirymidynie w leczeniu dorosłych pacjentów z rakiem okrężnicy lub odbytnicy z przerzutami.
- jako leczenie pierwszego rzutu u dorosłych pacjentów z rozsiałym rakiem piersi w skojarzeniu z chemioterapią opartą o paklitaksel
- jako leczenie pierwszego rzutu w skojarzeniu z kapecytabiną u dorosłych pacjentów z rozsiałym rakiem piersi , u których inny rodzaj chemioterapii, w tym taksany lub antracykliny, nie został uznany za odpowiedni.
- w leczeniu pierwszego rzutu w skojarzeniu z chemioterapią opartą na pochodnych platyny u dorosłych pacjentów z nieoperacyjnym zaawansowanym, z przerzutami lub nawrotowym, niedrobnokomórkowym rakiem płuca, o histologii innej niż w przeważającym stopniu płaskonabłonkowa
- w skojarzeniu z erlotynibem w leczeniu pierwszego rzutu u dorosłych pacjentów z nieoperacyjnym, zaawansowanym, z przerzutami lub nawrotowym, niepłaskonabłonkowym, niedrobnokomórkowym rakiem płuca, z aktywującymi mutacjami w genie receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR)

Bewacyzumab znalazł również zastosowanie w okulistyce. Jego stosowanie w schorzeniach narządu wzroku jak dotąd pozostaje *off-label*. Wykorzystuje się go w postaci iniekcji doszklistkowych w leczeniu:

- retinopatii cukrzycowej proliferacyjnej przed witrektomią
- cukrzycowego obrzęku plamki DME (*ang. diabetic macular edema*) [55]
- zakrzepu żył siatkówki RVO (*ang. retinal vein occlusion*) [56]
- wysiękowej postaci starczego zwyrodnienia plamki AMDS (*ang. age-related macular degeneration*)

Mechanizm działania:

Bewacyzumab wiąże się z czynnikiem wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF), kluczowym mediatorem waskulogenezy i angiogenezy (Rys. 19).



Rys. 19. Mechanizm działania bewacizumabu [7]

Hamuje wiązanie VEGF z receptorami Flt-1 (VEGFR-1) i KDR (VEGFR-2) na powierzchni komórek śródbłonka. Neutralizacja biologicznej aktywności VEGF cofa nowo powstałe unaczynienie guza, normalizuje pozostające unaczynienie guza oraz zatrzymuje powstawanie nowych naczyń w guzie, przez co hamuje rozrost guza.

Ramucyrumab

lek oryginalny: Cyramza [57]

data rejestracji: 2014

Budowa i pochodzenie:

Ramucyrumab jest ludzkim przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1 wytwarzanym w komórkach mysich (NS0) metodą rekombinacji DNA

Wskazania do stosowania:

Ramucyrumab jest wskazany w leczeniu:

- raka żołądka w skojarzeniu z paklitakselem w leczeniu dorosłych pacjentów z zaawansowanym rakiem żołądka lub gruczolakorakiem połączenia przełykowo-żołądkowego, u których wykazano progresję choroby po wcześniejszej chemioterapii pochodnymi platyny i fluoropirymidyną
- w monoterapii w leczeniu dorosłych pacjentów z zaawansowanym rakiem żołądka w lub gruczolakorakiem połączenia przełykowo-żołądkowego, u których wykazano progresję choroby po wcześniejszej chemioterapii pochodnymi platyny lub fluoropirymidyną oraz u których leczenie w skojarzeniu z paklitakselem nie jest odpowiednie
- w leczeniu raka okrężnicy i odbytnicy z przerzutami (*ang. metastatic colorectal cancer, mCRC*), u dorosłych pacjentów u których wykazano progresję choroby w trakcie lub po zakończeniu wcześniejszego leczenia bewacyzumabem, oksaliplatyną i fluoropirymidyną, w skojarzeniu ze schematem FOLFIRI
- w skojarzeniu z erlotynibem jest wskazany do stosowania w leczeniu pierwszego rzutu u dorosłych pacjentów z przerzutowym niedrobnokomórkowym rakiem płuca (NDRP) z mutacjami aktywującymi w genie receptora naskórkowego czynnika wzrostu (*ang. epidermal growth factor receptor, EGFR*)
- w skojarzeniu z docetakselem jest wskazany do stosowania w leczeniu dorosłych pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca miejscowo zaawansowanym lub z przerzutami, u których stwierdzono progresję choroby po chemioterapii opartej na pochodnych platyny.
- w monoterapii w leczeniu dorosłych pacjentów z zaawansowanym lub nieresekcyjnym rakiem wątrobowokomórkowym leczonych uprzednio sorafenibem, u których stężenie alfa fetoproteiny (AFP) w surowicy wynosi ≥ 400 ng/ml

Mechanizm działania:

Ramucyrumab jest ludzkim przeciwciałem ukierunkowanym na receptor VEGF. Receptor ten jest receptorem dla czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (*ang. Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF*) i jest głównym mediatorem procesu angiogenezy indukowanego przez VEGF. Przeciwciało to wiąże się z nim swoiście i blokuje wiązanie do niego czynników VEGF-A, VEGF-C oraz VEGF-D. W wyniku tego ramucyrumab hamuje stymulowaną przez ligand aktywację VEGFR-2 i elementy szlaku sygnałowego, w tym aktywowane mitogenem kinazy białkowe p44/p42, neutralizując indukowaną przez ligand proliferację i migrację ludzkich komórek śródbłonka. Powoduje to zahamowanie procesu angiogenezy i ograniczenie odżywienia komórek guza.

2.18. Przeciwciała skierowane przeciwko IgE

Immunoglobuliny klasy E są przeciwciałami, które powstają przede wszystkim w trakcie reakcji alergicznej. Ich podwyższony poziom świadczy o rozwijającej się w organizmie alergii. Przeciwciała IgE są ważną przyczyną alergicznej astmy oskrzelowej. Po połączeniu się alergenu

(np. pyłki kwiatów) z IgE związanym z receptorami na komórkach tucznych ludzkiego układu odporności następuje sieciowanie receptorów i degranulacja komórki. Prowadzi to do uwolnienia histaminy i leukotrienów powodujących zapalenie i skurcz oskrzeli. Związanie IgE może zapobiegać uszkodzeniu mastocytów i na wczesnym poziomie zahamować reakcję zapalną.

Omalizumab

lek oryginalny: Xolair [58]

data rejestracji: 2005

Budowa i pochodzenie:

Omalizumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1k wytwarzanym w technologii rekombinacji DNA z linii komórek jajnika chomika chińskiego. Zawiera ono ludzkie regiony zrębowe wraz z regionami określającymi komplementarność (*ang. complementary-determining regions*) pochodzącymi od macierzystego przeciwciała mysiego. Skierowany jest przeciwko IgE.

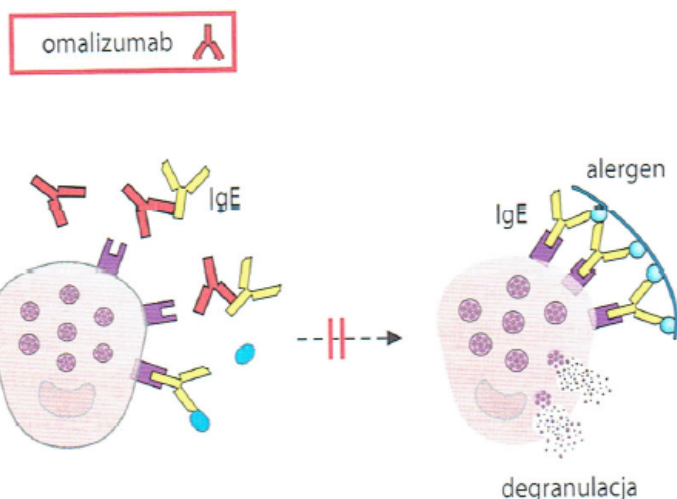
Wskazania do stosowania:

Omalizumab jest wskazany w leczeniu:

- astmy alergicznej u dorosłych i dzieci powyżej 6 roku życia, u których astma wywołana jest za pośrednictwem immunoglobuliny IgE
- przewlekłego zapalenia błony śluzowej nosa i zatok z polipami nosa (*ang. chronic rhinosinusitis with nasal polyps, CRSwNP*)

Mechanizm działania:

Omalizumab wiąże się z regionem stałym przeciwciała IgE i zapobiega wiązaniu się IgE do swoistego receptora (FcεRI) na bazofilach i komórkach tucznych, w ten sposób zmniejszając ilość wolnej IgE, zdolnej do wyzwolenia kaskady alergicznej (Rys. 20). Leczenie omalizumabem hamuje stan zapalny wywołany przez IgE, o czym świadczy zmniejszenie liczby eozynofiliów we krwi i tkankach oraz zmniejszenie stężenia mediatorów reakcji zapalnej, w tym IL-4, IL-5 i IL-13 wytwarzanych przez komórki wrodzonego i adaptacyjnego układu immunologicznego oraz komórki nieimmunologiczne. Ponieważ omalizumab wiąże się z regionami Fc przeciwciał IgE, możliwe jest zastosowanie tego leku w przypadku praktycznie każdej alergii zależnej od IgE, gdyż swoistość przeciwciała IgE nie ma znaczenia dla mechanizmu samej neutralizacji. Ponadto neutralizacja przeciwciał IgE dostępnych dla związania z receptorem FcεRI powoduje znaczne zmniejszenie gęstości receptorowej (do ok 90%) oraz redukcję degranulacji komórek.



Rys. 20. Mechanizm działania omalizumabu [7]

2.19. Przeciwciała skierowane przeciwko $\alpha 4$ integrynie

Integryny $\alpha 4$ określa się mianem bardzo późnego antygenu 4 VLA-4 (*ang. very late antigen 4*) lub CD49d-CD29. Podlegają one ekspresji we wszystkich leukocytach, z wyjątkiem neutrofilów, na hematopoetycznych komórkach progenitorowych oraz pośredniczą w migracji komórek do tkanek docelowych. W tym celu integryny $\alpha 4$ wiążą się ze swoimi receptorami, czyli VCAM-1 (*ang. vascular cell adhesion molecule-1*) oraz MadCAM-1 (*ang. mucosal addressing cell adhesion molecule-1*), które występują na komórkach śródbłonna. Integryny $\alpha 4$ regulując migracje leukocytów do tkanek docelowych i wpływają na rozwój procesów zapalnych w tych tkankach.

Nataizumab

lek oryginalny: Tysabri [59]

data rejestracji: 2004

Budowa i pochodzenie:

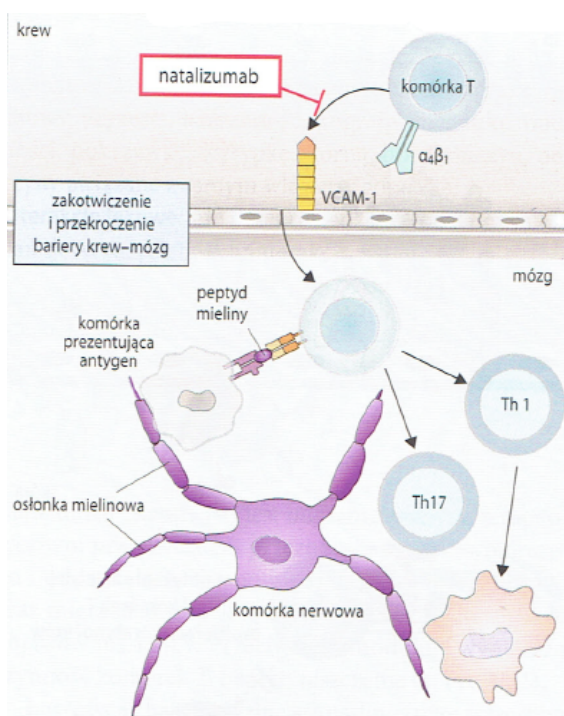
Natalizumab jest rekombinowanym humanizowanym przeciwciałem klasy IgG4 przeciwko integrynie $\alpha 4$ wytwarzanym w mysich liniach komórkowych metodą rekombinacji DNA. Po humanizacji pierwotnie mysiego przeciwciała (AN100 226 m) mysią linię komórkową szpiczaka NS/0 transfekuje się plazmidem ekspresyjnym zawierającym cDNA przeciwciała. Produkcyjną linię komórek, z których izoluje się przeciwciała AN100 226, określa się mianem ATH-1.

Wskazania do stosowania:

Natalizumab jest wskazany do stosowania u dorosłych pacjentów w monoterapii do modyfikacji przebiegu choroby w ustępująco-nawracającej postaci stwardnienia rozsianego o dużej aktywności.

Mechanizm działania:

Natalizumab jest selektywnym inhibitorem cząsteczek adhezyjnych wiążącym się z podjednostką $\alpha 4$ integryny (Rys. 21)



Rys. 21. Mechanizm działania natalizumabu [7]

Wiąże się on swoiście z integryną $\alpha 4\beta 1$, blokując interakcję z jej receptorem, cząsteczką adhezji międzykomórkowej naczyń 1 (VCAM-1) i ligandami – osteopontyną oraz alternatywnie uformowaną domeną fibronektyny – segmentem łączącym 1 (CS-1). Natalizumab blokuje także interakcję integryny $\alpha 4\beta 7$ z adresyną - cząsteczką adhezyjną błon śluzowych 1 (MadCAM-1).

Zakłócenie tych interakcji molekularnych zapobiega przenikaniu limfocytów jednojądrowych przez śródbłonek do zapalnej tkanki śródmiąższowej. Dalszy mechanizm działania natalizumabu może obejmować supresję reakcji zapalnych toczących się w zmienionych chorobowo tkankach w wyniku hamowania interakcji pomiędzy leukocytami wykazującymi ekspresję $\alpha 4$, a ich ligandami w macierzy pozakomórkowej i komórkach śródmiąższowych. W ten sposób natalizumab może działać supresyjnie na proces zapalny trwający w miejscu objętym chorobą i hamować dalszą rekrutację komórek zapalnych w tkance objętej zapaleniem.

Uważa się, że zmiany w stwardnieniu rozsianym występują po przeniknięciu aktywowanych limfocytów T przez barierę krew-mózg. Migracja leukocytów przez barierę krew-mózg obejmuje interakcję pomiędzy cząsteczkami adhezyjnymi na powierzchni komórek zapalnych i komórek śródbłonna ściany naczynia. Interakcja pomiędzy integryną $\alpha 4\beta 1$ i jej cząsteczkami docelowymi stanowi ważny składnik patologicznego procesu zapalnego w mózgu i przerwanie tych interakcji prowadzi do zmniejszenia zapalenia. W prawidłowych warunkach cząsteczka VCAM-1 nie występuje w przestrzeni śródmiąższowej mózgu. Jednakże w obecności cytokin prozapalnych dochodzi do nadmiernej ekspresji VCAM-1 na komórkach śródbłonna i prawdopodobnie na komórkach glejowych znajdujących się w pobliżu miejsca zapalenia. W przypadku stanu zapalnego w obrębie ośrodkowego układu nerwowego w przebiegu stwardnienia rozsianego interakcje pomiędzy $\alpha 4\beta 1$ i VCAM-1, CS-1 i osteopontyną pośredniczą w silnym przyleganiu i migracji leukocytów do przestrzeni śródmiąższowej mózgu, mogąc w ten sposób podtrzymywać kaskadę zapalną w OUN. Zablokowanie interakcji molekularnych pomiędzy $\alpha 4\beta 1$ i elementami docelowymi zmniejsza aktywność zapalną w mózgu u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym i hamuje dalszą rekrutację komórek odpornościowych do tkanki zapalnej, zmniejszając w ten sposób tworzenie lub powiększanie się ognisk chorobowych w stwardnieniu rozsianym. W konsekwencji dochodzi do zmniejszenia procesu zapalnego i zahamowania niszczenia osłonek mielinowych nerwów.

Vedolizumab

lek oryginalny: Entyvio [60]

data rejestracji: 2014

Budowa i pochodzenie:

Vedolizumab jest humanizowanym monoklonalnym przeciwciałem klasy IgG1, wytwarzanym z zastosowaniem technologii rekombinacji DNA w komórkach jajnika chomika chińskiego z zastosowaniem technologii rekombinacji DNA.

Wskazania do stosowania:

Vedolizumab jest wskazany w leczeniu:

- wrzodziejącego zapalenia jelit
- choroby Leśniowskiego-Crohna

u pacjentów którzy nie reagują wystarczająco, przestali reagować na leczenie lub nie tolerują leczenia konwencjonalnego lub antagonistami czynnika martwicy nowotworów-alfa (TNF α).

Mechanizm działania:

Vedolizumab jest selektywnym, wobec jelit, biologicznym produktem immunosupresyjnym. Wiąże się swoiście z integryną $\alpha 4\beta 7$, która ulega preferencyjnej ekspresji na wychwytywanych w jelitach pomocniczych limfocytach T. Vedolizumab, wiążąc się z $\alpha 4\beta 7$ na odpowiednich limfocytach, hamuje ich przyleganie do cząsteczki adhezyjnej MAdCAM-1, ale nie do cząsteczki adhezyjnej VCAM-1. MAdCAM-1 ulega ekspresji głównie na komórkach śródbłonna naczyń jelita i odgrywa zasadniczą rolę w zatrzymywaniu limfocytów T w obrębie błony śluzowej przewodu pokarmowego. Vedolizumab nie wiąże się ani nie hamuje działania integryny $\alpha 4\beta 1$ i $\alpha E\beta 7$. Integryna $\alpha 4\beta 7$ ulega ekspresji na dowolnej populacji pomocniczych limfocytów T pamięci, które preferencyjnie migrują do przewodu pokarmowego i wywołują stan zapalny charakterystyczny dla wrzodziejącego zapalenia jelita grubego i choroby Leśniowskiego-Crohna. Obie te choroby są przewlekłymi chorobami zapalnymi przewodu pokarmowego o podłożu immunologicznym.

Vedolizumab zmniejsza stan zapalny przewodu pokarmowego u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego i chorobą Leśniowskiego-Crohna.

2.20. Przeciwciała skierowane przeciwko białku dopełniacza C5

Białko C5 jest elementem tzw. późnych składników dopełniacza [61]. Ze względu na funkcje efektorowe aktywowanych białek dopełniacza stanowi on zagrożenie dla komórek własnych organizmu. Skutki niekontrolowanej aktywacji układu dopełniacza mogą prowadzić do systemowego uszkodzenia tkanek i narządów. Istnieją choroby u których podstaw leżą zaburzenia w zakresie aktywowania białek układów dopełniacza. Jedną z nich jest nietypowy zespół hemolityczno-mocznicowy, który może doprowadzić do utraty funkcji nerek.

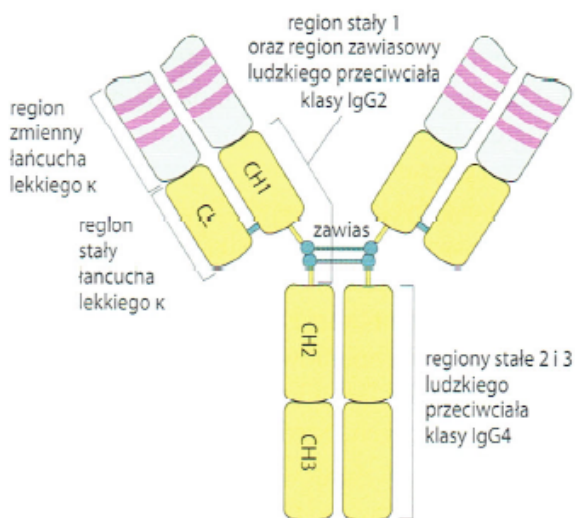
Eculizumab

lek oryginalny: Solaris [62]

data rejestracji: 2007

Budowa i pochodzenie:

Ekulizumab jest rekombinowanym, humanizowanym, monoklonalnym przeciwciałem klasy IgG2/4 κ , które wiąże się z ludzkim białkiem C5 dopełniacza i hamuje końcową fazę aktywacji. Przeciwciało to jest cząsteczką hybrydową (Rys. 22) składającą się z przeciwciała klasy IgG2 oraz z przeciwciała klasy IgG4, przy czym fragment Fc pochodzi od IgG4. Region stały izotypu IgG4 stosuje się przeważnie, gdy pożądana jest jedynie blokada struktury docelowej, bez wywołania następczej reakcji układu immunologicznego. Więc dzięki takiej budowie przeciwciało to nie wywołuje CDC i ADCC. Przeciwciało zawiera regiony stałe pochodzenia ludzkiego oraz regiony kodujące cechy komplementarności pochodzące od myszy, wbudowane w obszar ludzkich regionów zmiennych łańcucha lekkiego i ciężkiego.



Rys. 22. Budowa ekulizumabu [7]

Ekulizumab jest wytwarzany w hodowli mysich komórek szpiczakowych (linia komórkowa NS0) i oczyszczany metodą chromatografii powinowactwa i chromatografii jonowymiennej. Proces masowej produkcji substancji leczniczej obejmuje również etapy swoistej inaktywacji i usuwania wirusów. Terapia z zastosowaniem produktu Solaris jest jedną z najdroższych na świecie.

Wskazania do stosowania:

Ekulizumab jest wskazany do stosowania u dorosłych i dzieci z:

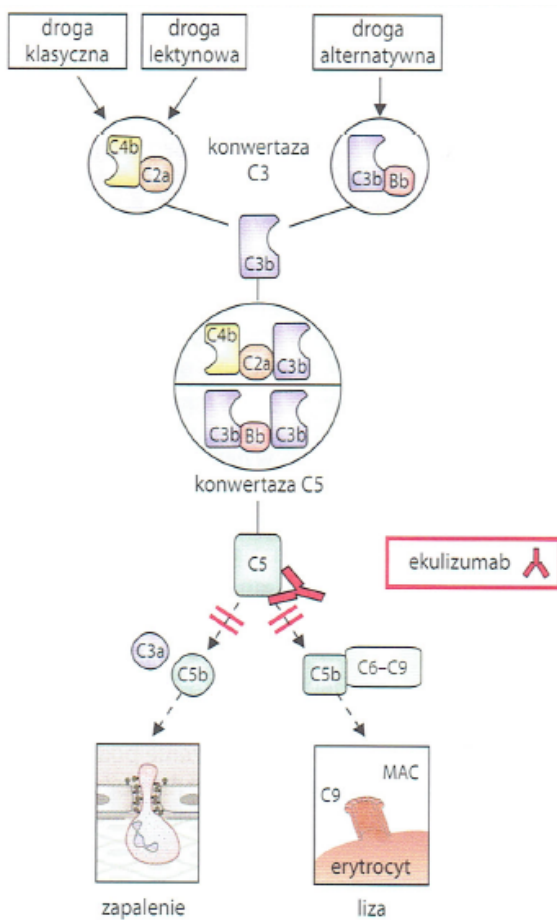
- napadową nocną hemoglobinurią (*ang. paroxysmal nocturnal haemoglobinuria*, PNH).
- atypowym zespołem hemolityczno-mocznicowym (*ang. atypical hemolytic uremic syndrome*, aHUS)

Ekulizumab jest wskazany w leczeniu dorosłych z:

- oporną na leczenie uogólnioną miastenią rzekomoporażną (*ang. generalized myasthenia gravis*, gMG) u pacjentów z dodatnim wynikiem badań na obecność przeciwciał przeciwko receptorowi acetylocholinowemu
- chorobą ze spektrum zapalenia nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego (*ang. neuromyelitis optica spectrum disorder*, NMOSD) u pacjentów z dodatnim wynikiem badania na obecność przeciwciał przeciw akwaporynie 4 w przypadku rzutowego przebiegu choroby

Mechanizm działania:

Ekulizumab jest inhibitorem końcowej fazy aktywacji dopełniacza, który w sposób swoisty i z wysokim powinowactwem wiąże się z białkiem C5 dopełniacza. W ten sposób następuje zahamowanie jego rozkładu na C5a i C5b, i nie dochodzi do wytworzenia końcowego kompleksu dopełniacza C5b-9 (Rys. 23). Zapobiega to powstaniu kompleksu atakującego błonę, a więc cytolizie atakowanej komórki. Ekulizumab nie wpływa na wcześniejsze etapy aktywacji dopełniacza, które mają zasadnicze znaczenie dla opsonizacji drobnoustrojów i usuwania kompleksów immunologicznych.



Rys. 23. Mechanizm działania ekulizumabu [7]

2.21. Przeciwciała skierowane przeciwko podjednostce p40 IL-12 i IL-23

Interleukiny 12 i 23 to heterodimeryczne cytokiny posiadające w swojej budowie podjednostkę białkową p40. Obie cytokiny są wydzielane przez aktywowane komórki prezentujące antygen, takie jak makrofagi i komórki dendrytyczne. Wpływają one na układ immunologiczny poprzez udział w procesach aktywacji komórek NK, a także w różnicowaniu i aktywacji komórek T CD4(+) w kierunku fenotypu T helper 1 (Th1)- IL-12, a IL-23 indukuje szlak T helper 17 (Th17) . Nieprawidłowa regulacja aktywności IL-12 i IL-23 wiąże się z chorobami immunologicznymi

takimi jak łuszczyca, łuszczycowe zapalenie stawów, choroba Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejące zapalenie jelita grubego. Blokada podjednostki p40 powoduje zahamowanie udziału tych interleukin w procesach i przerywa kaskady cytokinowe ważne dla patogenezy chorób o takim podłożu immunologicznym.

Ustekinumab

lek oryginalny: Stelara [63]

data rejestracji: 2009

Budowa i pochodzenie:

Ustekinumab jest w pełni ludzkim przeciwciałem monoklonalnym IgG1κ przeciwko interleukinie 12/23, wytworzonym w linii komórkowej mysiego szpiczaka z wykorzystaniem techniki rekombinacji DNA. Struktura węglowodanowa jest zakończona dwoma oddzielnymi łańcuchami. Zawiera fukozylowaną podstawę oraz heterogenną budowę, w której skład wchodzi galaktoza oraz kwas sialowy.

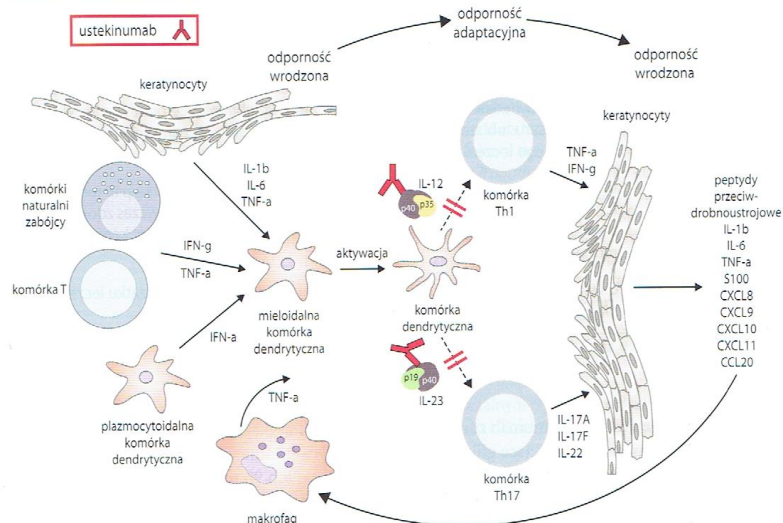
Wskazania do stosowania:

Ustekinumab jest stosowany w leczeniu:

- choroby Leśniowskiego-Crohna
- wrzodziejącego zapalenia jelit

Mechanizm działania:

Ustekinumab wiąże się z wysoką swoistością z podjednostką białkową p40 ludzkich cytokin – interleukin: IL-12 i IL-23. Hamuje bioaktywność IL-12 i IL-23 zapobiegając wiązaniu białka p40 z receptorem białkowym IL-12Rβ1 znajdującym się na powierzchni komórek układu odpornościowego (Rys. 24). Ustekinumab nie jest w stanie przyłączyć się do interleukiny IL-12 ani IL-23, które są już przyłączone do receptorów IL-12Rβ1 na powierzchni komórek. Dlatego ustekinumab nie oddziałuje na aktywność dopełniacza, ani nie bierze udziału w zjawisku cytotoksyczności komórek z receptorami IL-12 i (lub) IL-23.



Rys. 24. Mechanizm działania ustekinumabu [7]

Wiążąc się z dzieloną podjednostką p40 interleukin IL-12 i IL-23, ustekinumab może wykazywać swoje działanie kliniczne w łuszczycy, łuszczycowym zapaleniu stawów, chorobie Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego przez przerwanie szlaków cytokin, które są kluczowe w patologii tych chorób. U pacjentów leczonych ustekinumabem dochodzi do zmniejszenia stężeń markerów reakcji zapalnej, w tym białka C-reaktywnego (CRP) i kalprotektyny kałowej w czasie indukcji, i utrzymuje się w czasie fazy podtrzymującej.

2.22. Przeciwciała skierowane przeciwko RANKL

RANKL (*ang. receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand*) jest białkiem z rodziny czynników martwicy nowotworów biorącym istotny udział w regulacji procesów kościotworzenia i rozkładu kości. RANKL jest ligandem dla receptora RANK, który znajduje się na powierzchni osteoklastów oraz ich komórek prekursorowych. Przerwanie interakcji RANKL/RANK hamuje powstawanie, czynność i przeżycie osteoklastów, co zmniejsza resorpcję kostną w kości zarówno korowej jak i beleczkowej. Ponadto zapobieganie interakcji RANKL/RANK hamuje powstawanie i czynność osteoklastów, zmniejszając w ten sposób resorpcję kości oraz niszczenie kości indukowane przez nowotwór.

Denosumab

lek oryginalny: Xgeva [64, Prolia [65]

data rejestracji: 2010

Budowa i pochodzenie:

Denosumab jest ludzkim przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG2 wytwarzanym z linii komórkowej ssaków (komórek jajnika chomika chińskiego) za pomocą technologii rekombinacji DNA.

Wskazania do stosowania:

Denosumab jest wskazany w leczeniu:

Prolia:

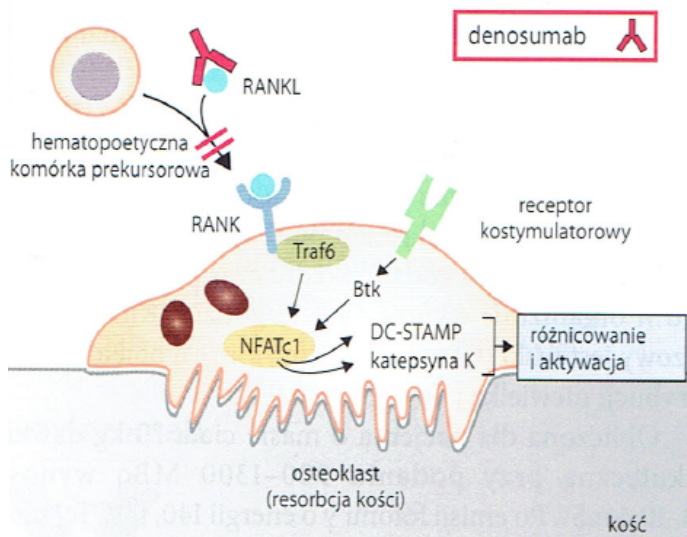
- leczenie osteoporozy u kobiet po menopauzie i u mężczyzn, u których występuje zwiększone ryzyko złamań.
- leczenie utraty masy kostnej w przebiegu ablacji hormonalnej u mężczyzn z rakiem gruczołu krokowego, u których występuje zwiększone ryzyko złamań.
- leczenie utraty masy kostnej związanej z długoterminowym układowym leczeniem glikokortykosteroidami dorosłych pacjentów, u których występuje zwiększone ryzyko złamań.

Xgeva:

- zapobieganie powikłaniom kostnym (złamania patologiczne, konieczność napromieniania kości, ucisk rdzenia kręgowego lub konieczność wykonywania zabiegów operacyjnych kości) u dorosłych z zaawansowanym procesem nowotworowym obejmującym kości
- leczenie dorosłych i młodzieży z dojrzałym układem kostnym, u których występuje nieoperacyjny guz olbrzymiokomórkowy kości lub, u których zabieg chirurgiczny może spowodować ciężkie okaleczenie.

Mechanizm działania:

RANKL występuje w postaci przezbłonowego lub rozpuszczalnego białka. RANKL jest konieczny do tworzenia, funkcjonowania i przeżycia osteoklastów, które są jedynym rodzajem komórek odpowiedzialnych za resorpcję kości. Nasiloną aktywność osteoklastów, stymulowana przez RANKL, jest głównym mediatorem niszczenia kości w chorobie nowotworowej z przerzutami do kości i w szpiczaku plazmocytowym. Denosumab jest ludzkim przeciwciałem monoklonalnym, skierowanym przeciwko RANKL. Wiążącym się z dużym powinowactwem i swoistością z RANKL zapobiegając interakcji RANKL/RANK. Hamuje to powstawanie i czynność osteoklastów, zmniejszając w ten sposób resorpcję kości oraz niszczenie kości indukowane przez nowotwór (Rys. 25). Guzy olbrzymiokomórkowe kości charakteryzują się obecnością nowotworowych komórek zrębowych wykazujących ekspresję ligandu RANK oraz podobnych do osteoklastów komórek olbrzymich wykazujących ekspresję RANK. U pacjentów z guzem olbrzymiokomórkowym kości denosumab wiąże się z ligandem RANK, w wyniku czego dochodzi do istotnej redukcji lub eliminacji komórek olbrzymich podobnych do osteoklastów.



Rys.25. Mechanizm działania denosumabu[7]

W konsekwencji ograniczona zostaje osteoliza, a proliferacyjne podścielisko guza zastępowane jest nieproliferacyjną, zróżnicowaną, gęsto utkaną nową tkanką kostną.

2.23. Przeciwciała skierowane przeciwko BAFF

BAFF (*ang.* *B-cell activating factor*) jest czynnikiem stymulatorowym limfocytów B. Jest on cytokiną należącą do rodziny martwiczych czynników nowotworów (TNF). Ulega on ekspresji w komórkach B i odgrywa rolę jako ich aktywator. Odgrywa też rolę w proliferacji i różnicowaniu limfocytów B.

Belimumab

lek oryginalny: Benlysta [66]

data rejestracji: 2011

Budowa i pochodzenie:

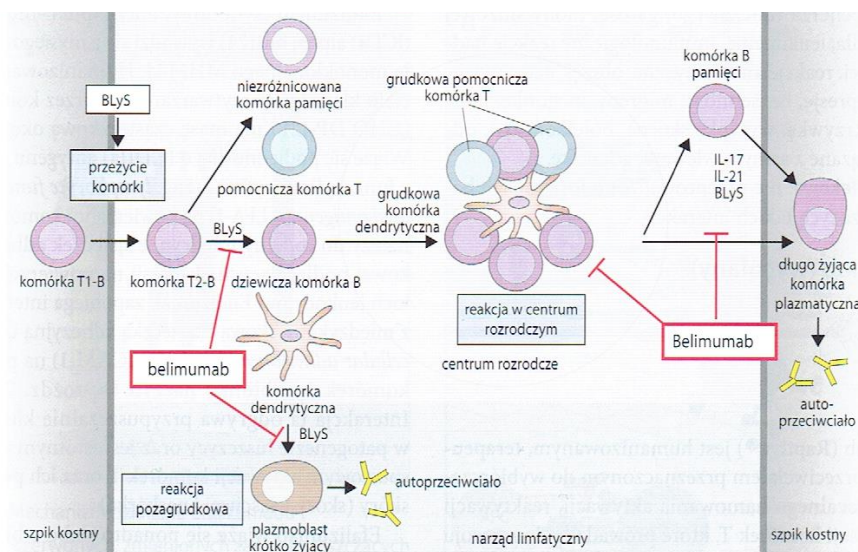
Belimumab jest ludzkim przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1 λ , wytwarzanym w linii komórek mysich (NS0) z zastosowaniem techniki rekombinacji DNA. Wiąże się on swoiście z rozpuszczalnym białkiem stymulatorowym ludzkich limfocytów B.

Wskazania do stosowania:

Belimumab jest wskazany jako terapia uzupełniająca u dorosłych pacjentów z aktywnym, seropozytywnym toczeniem rumieniowatym układowym (SLE) o wysokim stopniu aktywności choroby (np. z obecnością przeciwciał przeciwko dsDNA i z niskim poziomem dopełniacza) pomimo stosowania standardowego leczenia.

Mechanizm działania:

Belimumab blokuje wiązanie rozpuszczalnego BAFF (BLyS), czynnika przeżywalności limfocytów B, z jego receptorami na tych komórkach. Nie wiąże się on bezpośrednio z limfocytami B, lecz przyłączając się do BLyS uniemożliwia przeżycie limfocytom B, w tym także limfocytom B autoreaktywnym. Zmniejsza także różnicowanie limfocytów B w komórki plazmatyczne wytwarzające immunoglobuliny. Poziom BLyS jest podwyższony u pacjentów z SLE i innymi chorobami autoimmunologicznymi. Obserwowano związek pomiędzy poziomem BLyS w osoczu i aktywnością SLE. Względny udział poziomu BAFF w patofizjologii SLE nie jest do końca poznany. W odróżnieniu od obu przeciwciał onkologicznych skierowanych wobec antygenu CD20 belimumab nie wiąże się bezpośrednio z komórkami B, a więc nie wywołuje ani CDC ani ADCC. Można więc stwierdzić, że przeciwciało to neutralizuje czynnościowo czynnik przeżycia dla komórek B, co ostatecznie prowadzi do ich śmierci, jednak nie jest to tak gwałtowne jak w przypadku zastosowania przeciwciał anti-CD20 (Rys. 26).



Rys. 26. Mechanizm działania belimumabu [7]

Belimumab wydaje się przede wszystkim wpływać na przeżycie komórek B w stadium przejściowym T2. Przeciwciało to może hamować aktywację, różnicowanie i przełączanie izotypów w dziewiczych komórkach B, a także hamować stymulację krótko żyjących blastów plazmatycznych. Sugeruje się, że w toku dalszego rozwoju komórek B belimumab hamuje przebieg reakcji w centrum rozrodczym oraz różnicowanie komórek pamięci B do długo żyjących komórek plazmatycznych. Zmniejsza to ilość auto-przeciwciał wytwarzanych przez komórki plazmatyczne.

2.24. Przeciwciała skierowane przeciwko toksynie laseczek wąglika

Laseczka wąglika (*Bacillus anthracis*) wywołuje u człowieka chorobę atakującą w zależności od drogi wprowadzenia skórę, jelita lub płuca. Najczęstszą postacią jest postać płucna wąglika. Zakażenie następuje drogą wziewną w trakcie wdychania pyłu zawierającego żywe bakterie i ich przetrwalniki. Eksperti Working Group on Civilian Biodefense (amerykańska Grupa Robocza ds. Obrony Cywilnej przeciwko Broni Biologicznej) spośród wielu drobnoustrojów, które można wykorzystać jako broń biologiczną, wybrali kilka gatunków, których zastosowanie spowodowałoby wystarczająco dużą zachorowalność i umieralność, aby sparaliżować funkcjonowanie miasta lub całego regionu kraju. Jedną z najpoważniejszych chorób z tej grupy jest wąglik w swojej postaci wziewnej [67]. Za czynnik odpowiedzialny za wystąpienie stanu zagrożenia życia jest toksyna wąglika, która powoduje krwotok, obrzęk i martwicę. U zwierząt doświadczalnych osiągnięcie pewnego krytycznego poziomu wytwarzania toksyn powodowało zgon pomimo eliminacji bakterii z krwi pod wpływem podawania antybiotyków. Dlatego zasadne wydaje się wprowadzenie leku, który jest w stanie eliminować z ustroju toksynę.

Obiltoksaksymab

lek oryginalny: Oliltoxaximab SLF [68]

data rejestracji: 2016

Budowa i pochodzenie:

Obiltoksaksymab jest przeciwciałem monoklonalnym wytwarzany w mysich komórkach szpiczaka GS-NS0 metodą rekombinacji DNA

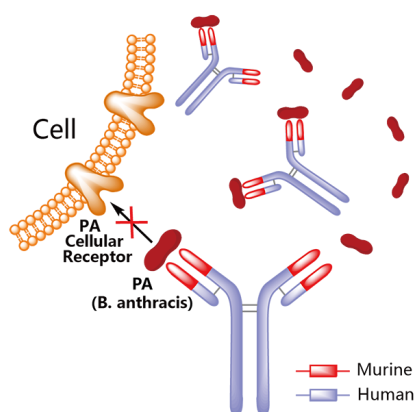
Wskazania do stosowania:

Obiltoksaksymab jest wskazany do stosowania w skojarzeniu z odpowiednimi lekami przeciwbakteryjnymi we wszystkich grupach wiekowych w leczeniu wąglika wziewnego wywołanego przez bakterię *Bacillus anthracis*. Może być też stosowany we wszystkich grupach

wiekowych w ramach profilaktyki poekspozycyjnej węgla wziętego, kiedy inne metody leczenia są nieodpowiednie lub niedostępne.

Mechanizm działania:

Obiltoksaksymab jest przeciwciałem monoklonalnym, które wiąże antygen ochronny (PA) bakterii *B. anthracis*. Hamuje on wiązanie PA do jego receptorów komórkowych, dzięki czemu zapobiega przeniknięciu do komórki czynnika letalnego i czynnika obrzęku – enzymatycznych składników toksyny wytwarzanej przez laseczkę węgla odpowiedzialnych za jej patogenne działanie.



Rys. 27. Mechanizm działania obiltoksaksymabu [69]

2.25. Przeciwciała skierowane przeciwko białku PCSK9

PCSK9 (*ang. proprotein convertase subtilisin/kexin 9*) jest białkiem odgrywającym kluczową rolę w metabolizmie LDL (*ang. low-density lipoprotein*). Jego ekspresja odbywa się głównie w komórkach wątroby natomiast w jelitach, nerkach i mózgu proces ten jest mniej nasilony. Cząsteczki PCSK9 prowadzą do zmniejszenia liczby receptorów dla LDL (*ang. low-density lipoprotein receptor*, LDLR) wewnątrz komórek wątroby, a także są wydzielane do krwi, aby tam związać krążące LDLR. Proces ten prowadzi do endocytozy kompleksów LDLR–PCSK9 i degradacji LDLR w lizosomach komórek wątroby [70]. Efektem tego jest zmniejszenie się liczby receptorów wiążących LDL, które biorą udział w jego usuwaniu, co może prowadzić do zwiększenia w organizmie stężenia tej frakcji lipoprotein.

Alirokumab

lek oryginalny: Praluent [71]

data rejestracji: 2015

Budowa i pochodzenie:

Alirokumab jest ludzkim przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1κ wytwarzanym metodą rekombinacji DNA w komórkach jajnika chomika chińskiego. Stanowi ono antagonistę białka PCSK9 produkowanego przez komórki wątroby.

Wskazania do stosowania:

Alirokumab jest wskazany w hipercholesterolemii pierwotnej (heterozygotycznej rodzinnej i nierodzinnej) i dyslipidemii mieszanej jako uzupełnienie diety w skojarzeniu ze statyną lub ze statyną stosowaną razem z innymi lekami hipolipemizującymi, w monoterapii lub w skojarzeniu z innymi lekami hipolipemizującymi. Drugim wskazaniem jest rozpoznana miażdżycowa choroba układu sercowo-naczyniowego w skojarzeniu ze statyną lub ze statyną stosowaną razem z innymi lekami hipolipemizującymi, w monoterapii lub w skojarzeniu z innymi lekami hipolipemizującymi.

Mechanizm działania:

Alirokumab powoduje zablokowanie białka PCSK9, które jest wydzielane przez komórki wątroby. Białko to powoduje zmniejszenie w wątrobie liczby receptorów usuwających z organizmu cholesterol LDL, w wyniku czego stężenie tej frakcji cholesterolu jest większe niż być powinno. Alirokumab poprzez zablokowanie białka PCSK9, powoduje zwiększenie liczby dostępnych receptorów biorących udział w usuwaniu cholesterolu LDL co w efekcie prowadzi to zmniejszenie jego stężenia w organizmie.

Ewolokumab

lek oryginalny: Repatha [72]

data rejestracji: 2015

Budowa i pochodzenie:

Ewolokumab jest ludzkim przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG2 wytwarzanym w komórkach jajnika chomika chińskiego (CHO) metodą rekombinacji DNA

Wskazania do stosowania:

Ewolokumab jest wskazany do stosowania:

- u dorosłych z pierwotną hipercholesterolemią (rodzinną heterozygotyczną i nierodzinną) lub mieszaną dyslipidemią jako uzupełnienie diety w skojarzeniu ze statyną lub statyną i innymi lekami hipolipemizującymi u pacjentów, u których nie jest możliwe osiągnięcie docelowego stężenia cholesterolu LDL przy zastosowaniu statyny w najwyższej tolerowanej dawce, albo w monoterapii lub w skojarzeniu z innymi lekami hipolipemizującymi u pacjentów nietolerujących statyn, albo u których stosowanie statyn jest przeciwwskazane.
- w skojarzeniu z innymi lekami hipolipemizującymi u dorosłych i młodzieży w wieku co najmniej 12 lat z homozygotyczną postacią hipercholesterolemii rodzinnej.
- u osób dorosłych z rozpoznaną miażdżycową chorobą układu sercowo-naczyniowego (zawał mięśnia sercowego, udar mózgu lub choroba tętnic obwodowych) w celu zmniejszenia ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego poprzez zmniejszenie stężenia cholesterolu LDL, jako uzupełnienie skorygowania innych czynników ryzyka: w skojarzeniu z maksymalną tolerowaną dawką statyny lub bez innych terapii zmniejszających stężenie lipidów lub, samodzielnie lub w połączeniu z innymi terapiami zmniejszającymi stężenie lipidów u pacjentów z nietolerancją statyn, lub u których stosowanie statyn jest przeciwwskazane.

Mechanizm działania:

Ewolokumab wiąże się wybiórczo z białkiem PCSK9. W ten sposób uniemożliwia wiązanie krążącej frakcji PCSK9 z receptorem dla lipoprotein o niskiej gęstości - LDLR (*ang. low density lipoprotein receptor*) na powierzchni hepatocytów, zapobiegając rozkładowi LDLR przy udziale PCSK9. Zwiększenie gęstości występowania receptorów LDL wiąże się ze zmniejszeniem stężenia frakcji LDL cholesterolu w surowicy krwi.

2.26. Przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi SLAMF7/CD319

SLAMF7 (*ang. Signaling Lymphocyte Activation Marker Family member 7*) jest to białko należące do rodziny cząsteczek sygnalizujących aktywację limfocytów 7 (SLAMF7). Ekspresja białka SLAMF7 jest bardzo wysoka w komórkach szpiczaka mnogiego, niezależnie od nieprawidłowości cytogenetycznych. Ekspresja białka SLAMF7 jest obserwowana również w komórkach NK, prawidłowych komórkach plazmatycznych i innych komórkach układu odpornościowego, w tym w niektórych podgrupach limfocytów T, monocytach, limfocytach B, makrofagach i pDC (plazmocytoidalne komórki dendrytyczne), lecz nie jest wykrywana w prawidłowych tkankach miękkich ani krwiotwórczych komórkach macierzystych.

Elotuzumab

lek oryginalny: Empliciti [73]

data rejestracji: 2015

Budowa i pochodzenie:

Elotuzumab jest przeciwciałem monoklonalnym wytwarzany przez komórki mysie linii NS0 z wykorzystaniem technologii rekombinacji DNA którego działanie jest specyficznie ukierunkowane na białko należące do rodziny cząsteczek sygnalizujących aktywację limfocytów 7 (SLAMF7)

Wskazania do stosowania:

Elotuzumab ma zastosowanie:

- w skojarzeniu z lenalidomidem i deksametazonem w leczeniu szpiczaka mnogiego u dorosłych pacjentów, u których zastosowano wcześniej co najmniej jedną terapię
- w skojarzeniu z pomalidomidem i deksametazonem w leczeniu nawrotowego i opornego szpiczaka mnogiego u dorosłych pacjentów, u których zastosowano wcześniej co najmniej dwie terapie w tym zawierające lenalidomid i inhibitor proteasomu i u których nastąpiła progresja choroby w trakcie ostatniego leczenia

Mechanizm działania:

Elotuzumab bezpośrednio aktywuje komórki NK zarówno poprzez szlak SLAMF7, jak i receptory Fc, wzmacniając działanie przeciwszpiczakowe w warunkach *in vitro*. Działanie elotuzumabu jest również skierowane na białko SLAMF7 w komórkach szpiczakowych i przez interakcję z receptorami Fc na specyficznych komórkach układu immunologicznego przyczynia się do zabijania komórek szpiczakowych na drodze cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC), w której pośredniczą komórki NK i na drodze fagocytozy komórkowej zależnej od przeciwciał (*ang. macrophage mediated antibody dependant cellular phagocytosis - MMADCP*), w której uczestniczą makrofagi.

2.27. Przeciwciała skierowane przeciwko Interleukinie-5

Interleukina-5 (IL-5) jest główną cytokiną odpowiedzialną za różnicowanie, dojrzewanie, rekrutowanie i aktywację ludzkich eozynofili.

Reslizumab

lek oryginalny: Cinqero [74]

data rejestracji: 2016

Budowa i pochodzenie:

Reslizumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG4κ, skierowanym przeciwko ludzkiej interleukinie 5 (IL-5). Wytwarzany jest w technologii rekombinacji DNA z linii komórek szpiczaka mysiego (NS0).

Wskazania do stosowania:

Reslizumab jest wskazany w leczeniu uzupełniającym u dorosłych pacjentów z ciężką astmą eozynofilową niewystarczająco kontrolowaną kortykosteroidami wziewnymi w dużych dawkach z innym produktem leczniczym do leczenia podtrzymującego.

Mechanizm działania:

Reslizumab wiąże się swoiście z IL-5 i zakłóca wiązanie się IL-5 z receptorem na powierzchni komórki. Blokując funkcje biologiczne IL-5, powoduje zmniejszenie przeżywalności i aktywności eozynofili.

Mepolizumab

lek oryginalny: Nucala [75]

data rejestracji: 2015

Budowa i pochodzenie:

Mepolizumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1k. Jest on wytwarzany w technologii rekombinacji DNA z linii komórek jajnika chomika chińskiego. Charakteryzuje się wysokim powinowactwem i swoistością do interleukiny-5.

Wskazania do stosowania:

Mepolizumab wskazany jest w leczeniu uzupełniającym u dorosłych, młodzieży i dzieci w wieku 6 lat i starszych z ciężką, oporną na leczenie astmą eozynofilową.

Mechanizm działania:

Mepolizumab hamuje aktywność biologiczną IL-5, poprzez blokowanie wiązania się IL-5 z łańcuchem α kompleksu receptora IL-5 znajdującego się na powierzchni komórki eozynofila, hamując w ten sposób przekazywanie sygnału IL-5 i ograniczając wytwarzanie oraz przeżywalność eozynofili.

2.28. Przeciwciała skierowane przeciwko Interleukinie-17A

Interleukina-17A jest naturalnie występującą cytokiną uczestniczącą w prawidłowych odpowiedziach zapalnych i immunologicznych. Odgrywa ona kluczową rolę w patogenezie łuszczycy plackowatej, łuszczycowego zapalenia stawów i spondyloartropatii osiowej. Jej stężenie jest podwyższone w zmienionej chorobowo skórze oraz w tkance maziowej pacjentów z łuszczycowym zapaleniem stawów. W tkance zdrowej jej poziom pozostaje niezmienny. Częstość występowania komórek wytwarzających IL-17 jest również znamienne większa u pacjentów w podchrzątkowym szpiku kostnym powierzchni stawowych u pacjentów z zeszywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa. Zwiększoną liczbę limfocytów wytwarzających IL-17A stwierdzono także u pacjentów z postacią spondyloartropatii osiowej bez zmian radiograficznych. Wykazano, że zahamowanie IL-17A jest skuteczne w leczeniu zeszywniającego zapalenia stawów kręgosłupa, wskazując na decydującą rolę tej cytokiny w spondyloartropatii osiowej.

Ixekizumab

lek oryginalny: Taltz [76]

data rejestracji: 2016

Budowa i pochodzenie:

Ixekizumab jest rekombinowanym, humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG4, wytwarzanym w linii komórkowej jajnika chomika chińskiego. Z wysokim powinowactwem i swoistością wiąże się z interleukiną 17A (zarówno IL-17A, jak i IL-17A/F).

Wskazania do stosowania:

Ixekizumab jest wskazany w leczeniu umiarkowanej do ciężkiej postaci łuszczycy plackowatej u dorosłych wymagających leczenia ogólnego.

Mechanizm działania:

W patogenezie łuszczycy pewną rolę odgrywa podwyższone stężenie IL-17A, pobudzając proliferację i aktywację keratynocytów. Neutralizacja IL-17A przez ixekizumab hamuje to działanie. Ixekizumab nie wiąże się z ligandami IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E lub IL-17F. W badaniach wiązania *in vitro* potwierdzono, że ixekizumab nie wiąże się z ludzkimi receptorami Fc γ R typu I, IIa i IIIa ani z elementem C1q układu dopełniacza.

Secukinumab

lek oryginalny: Cosentyx [77]

data rejestracji: 2015

Budowa i pochodzenie:

Secukinumab jest rekombinowanym, w pełni ludzkim przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1k wytwarzanym przez komórki jajnika chomika chińskiego (CHO). Przeciwciało to selektywnie wiąże i neutralizuje prozapalną cytokinę - interleukinę-17A (IL-17A) .

Wskazania do stosowania:

Secukinumab jest wskazany:

- w leczeniu łuszczycy plackowatej o nasileniu umiarkowanym do ciężkiego u dorosłych , dzieci i młodzieży w wieku od 6 lat spełniających kryteria rozpoczęcia leczenia ogólnego.
- w monoterapii lub w skojarzeniu z metotreksatem w leczeniu aktywnej postaci łuszczycowego zapalenia stawów u dorosłych pacjentów, u których odpowiedź na wcześniejsze leczenie lekami modyfikującymi przebieg choroby (DMARD) jest niewystarczająca.
- w leczeniu aktywnej postaci zeszywniającego zapalenia stawów kręgosłupa u osób dorosłych, u których odpowiedź na leczenie konwencjonalne była niewystarczająca.
- w leczeniu aktywnej postaci spondyloartropatii osiowej bez zmian radiograficznych charakterystycznych dla AS z obiektywnymi objawami zapalenia, na które wskazuje zwiększone stężenie CRP i/lub wynik badania metodą rezonansu magnetycznego u osób dorosłych z niewystarczającą odpowiedzią na leczenie niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi.

Mechanizm działania:

Działanie secukinumabu jest ukierunkowane na IL-17A i hamuje interakcję IL-17A z receptorem dla IL-17, znajdującym się na różnych typach komórek, w tym keratynocytach. W konsekwencji secukinumab hamuje uwalnianie prozapalnych cytokin, chemokin i mediatorów uszkodzenia tkanek oraz zmniejsza udział IL-17A w wywoływaniu chorób autoimmunologicznych i zapalnych. Secukinumab dociera do skóry w klinicznie istotnych stężeniach i obniża miejscowe markery zapalenia. Bezpośrednim skutkiem leczenia secukinumabem jest zmniejszenie zaczerwienienia, stwardnienia i łuszczenia się zmian skórnych w łuszczycy plackowatej.

2.29. Przeciwciała skierowane przeciwko Clostridium

Clostridium difficile jest beztlenową, gram-dodatnią laseczką. Choroba związana z *Clostridium difficile* przebiega najczęściej pod postacią biegunki o różnym stopniu nasilenia, w przeważającej większości przypadków poprzedzonej stosowaniem antybiotyku. Zakażenie *Clostridium difficile* jest odpowiedzialne za około 30% biegunek poantybiotykowych. Chorobotwórczość bakterii *Clostridium difficile* wynika głównie z produkowania przez nie toksyn białkowych o działaniu cytotoksycznym i enteropatogennym, chociaż zdolność do wywołania biegunki poantybiotykowej i zapalenia jelit mają także szczepy nietoksynotwórcze. Coraz większym problemem jest też objawowe zakażenie *Clostridium difficile* spowodowane zaburzeniami mikroflory jelitowej związanymi z antybiotykoterapią [78].

Bezlotoxumab

lek oryginalny: Zinplava [79]

data rejestracji: 2016

Budowa i pochodzenie:

Bezlotoksumab jest ludzkim przeciwciałem monoklonalnym wytwarzanym w komórkach jajnika chomika chińskiego z zastosowaniem technologii rekombinacji DNA. Wiąże się z swoicie z toksyną B *C. difficile*.

Wskazania do stosowania:

Bezlotoksumab jest wskazany do stosowania w zapobieganiu nawrotom zakażenia wywołanego przez *Clostridium difficile* (ang. *Clostridium difficile* infection, CDI) u dorosłych z wysokim ryzykiem nawrotu CDI.

Mechanizm działania:

Bezlotoksumab wiąże się z wysokim powinowactwem z toksyną B *C. difficile* i neutralizuje jej aktywność. Bezlotoksumab zapobiega nawrotowi CDI, zapewniając odporność bierną na toksynę wytwarzaną w wyniku rozrostu pozostałych w organizmie lub nowo nabytych przetrwalników *C. difficile*.

2.30. Przeciwciała skierowane przeciwko PDGFR

Receptor płytkopochodnego czynnika wzrostu alfa (ang. platelet-derived growth factor receptor alpha, PDGFR- α) jest receptorem o aktywności kinazy tyrozynowej, występującym na komórkach mezenchymalnych, jest on również wykrywany na komórkach nowotworowych, w tym na komórkach mięsaków [80]. Sygnał przekazywany do komórki nowotworowej przez ten receptor powoduje jej proliferację oraz ułatwia przerzutowania.

Olaratumab

lek oryginalny: Lartruvo [81]

data rejestracji: 2016

Budowa i pochodzenie:

Olaratumab jest ludzkim przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1 wytwarzanym w komórkach mysich (NS0) metodą rekombinacji DNA. Jest ono skierowane przeciwko receptorowi płytkopochodnego czynnika wzrostu alfa (PDGFR- α).

Wskazania do stosowania:

Olaratumab jest wskazany do stosowania w skojarzeniu z doksorubicyną w leczeniu dorosłych pacjentów z mięsakami tkanek miękkich w stadium zaawansowanym, nie kwalifikujących się do radykalnego leczenia chirurgicznego, ani radykalnej radioterapii, którzy nie byli leczeni wcześniej doksorubicyną.

Mechanizm działania:

Olaratumab jest antagonistą receptora α płytkopochodnego czynnika wzrostu (PDGFR- α), którego ekspresję stwierdza się na komórkach nowotworowych i komórkach podścieliska. Wiąże się on swoiście z PDGFR- α , hamując wiązanie z PDGF AA, -BB i -CC oraz aktywację receptora. W wyniku tego olaratumab hamuje szlak sygnałowy PDGFR- α w komórkach nowotworowych i w komórkach podścieliska w warunkach *in vitro*. Ponadto wykazano, że w warunkach *in vivo* olaratumab zakłóca szlak PDGFR- α w komórkach nowotworowych i hamuje wzrost nowotworu.

3. Podsumowanie

Podwaliny pod metodykę otrzymywania przeciwciał monoklonalnych stworzyli C. Millstein i G. Köhler. Ich odkrycie w 1984 roku zostało nagrodzone nagrodą Nobla.

Kilka wieków temu sir. Thomas Browne pisał, że „sztuką jest doskonalenie natury”. Można powiedzieć, że Millstein i Köhler stworzyli coś na kształt dzieła sztuki. Pokazali w jaki sposób stworzyć istniejące w ludzkim organizmie elementy naturalnej obrony, jak je zmodyfikować i wykorzystać tak aby stały się precyzyjnym i odznaczającym się ogromną czystością lekarstwem [82]. Osiągnięcie to otworzyło nowe ogromne pole do rozwoju nowej nauki i nie zostało przez nich opatentowane, co dało i dalej daje ogromne możliwości rozwoju.

Badania nad przeciwciałami monoklonalnymi i ich zastosowanie w leczeniu można uznać za początek nowej ery leków biologicznych. Przeciwciała monoklonalne w porównaniu z tradycyjnymi lekami to ogromne cząsteczki, a ich projektowanie i otrzymywanie to specjalność nauk biologicznych, zwłaszcza genetyki, immunologii, biotechnologii, a nie chemii. Przyczyniły się one do zmiany podejścia do sposobu odkrywania nowych leków. Chemiczne podejście odkrywania nowych leków polegające na zasadzie „przetestujmy nową grupę związków i zobaczymy czy któryś z nich nie leczy jakiejś choroby” zostaje powoli zastąpione nowym sposobem polegającym na manipulacji genami, komórkami i mikroorganizmami. To radykalna zmiana podejścia do szukania i odkrywania substancji aktywnych terapeutycznie i mogących mieć znaczenie w leczeniu. Dzisiaj proces tworzenia nowego leku rozpoczyna się od dogłębnego zrozumienia procesu chorobowego na który szukamy leku. Leki projektowane są w taki sposób, aby dokładnie trafiły w najłagodniejszy punkt procesu chorobowego, nie wpływając na inne toczące się w organizmie cykle.

Przeciwciała monoklonalne stanowią nową grupę leków biologicznych. Warunkiem skuteczności terapii z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych jest ich związanie się z docelowym antygenem na powierzchni komórki. Dobry cel dla przeciwciała monoklonalnego to taki, który ulega wysokiej ekspresji na komórkach zmienionych chorobowo (komórkach pojawiających się w odpowiedzi na proces chorobowy np. nowotworowych, komórkach procesu zapalnego) i niskiej na komórkach prawidłowych oraz którego poziom frakcji rozpuszczalnej w surowicy jest bardzo niski lub w ogóle nie występuje [83]. Przeprowadzone badania z wykorzystaniem techniki *in vitro* oraz w organizmach zwierząt wskazują, że działanie przeciwciał obejmuje głównie indukowanie apoptozy poprzez wpływ na szlaki sygnalizacyjne, cytotoksyczność zależną od układu dopełniacza oraz cytotoksyczność komórkową zależną od przeciwciał [84]. Posiadają one również zdolność wprowadzenia aktywnej substancji chemicznej dokładnie w określone miejsce swojego działania, ograniczając tym samym możliwe efekty uboczne wynikające z mechanizmów działania tych substancji. Ponadto potrafią one także związać i usunąć cząstki obecne w organizmie, które stanowią czynnik chorobotwórczy. Pozostaje jeszcze wiele innych do tej pory niewyjaśnionych mechanizmów działania przeciwciał, które warunkują ich skuteczność w leczeniu wielu chorób.

Procesy tworzenia, badania i wprowadzania do leczenia nowych przeciwciał monoklonalnych są stosunkowo długotrwałe i kosztowne. Podobnie sam proces produkcji przeciwciał monoklonalnych jest wieloetapowy, pracochłonny i kosztowny, a każdy etap może mieć znaczący wpływ na jakość produktu i jego opłacalność. Pierwszym dopuszczonym w 1986 r do stosowania przeciwciałem monoklonalnym był Muromonab-CD3 stosowany w profilaktyce odrzucenia przeszczepu. Przeciwciałem mającym bardzo duże roczne zużycie jest Adalimumab, który stosowany jest w szeregu chorób o podłożu zapalnym. Z tego wynika jego tak duże zapotrzebowanie. W 2018 roku był on najlepiej sprzedającym się lekiem na receptę. W roku tym wśród 10 najlepiej sprzedających się leków 7 to przeciwciała monoklonalne [85]. Natomiast jednym z najdroższych leków na świecie jest Eculizumab stosowany w leczeniu zespołu hemolityczno-mocznicowego

Przeciwciała monoklonalne znalazły zastosowanie we wszystkich przewlekłych chorobach autoimmunologicznych w reumatologii, ale także w gastroenterologii i dermatologii, podobnie jak w neurologii. Dzięki wprowadzeniu ich do leczenia rozwinęła się nowa gałąź onkologii tzw. immuno-onkologia. Jest to innowacyjna strategia leczenia nowotworów polegająca na aktywacji układu immunologicznego, który posiada naturalne mechanizmy obronności przeciwnowotworowej. Coraz częściej pojawiają się przeciwciała potrafiące eliminować z organizmu toksyczne białka, wywołujące różne niepożądane efekty w organizmie. Są one stosowane w leczeniu chorób zakaźnych oraz po przeszczepach narządów.

Można stwierdzić, że pomimo wysokich kosztów leczenia z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych znajdują one coraz szersze wskazania i zastosowanie w terapii. Okazuje się, że w analizie kosztów wobec skuteczności i działań niepożądanych stanowią one grupę leków o bardzo korzystnych parametrach farmakoeconomicznych.

Dodatkowo w ostatnich latach wygasają ochrony patentowe wielu biologicznych leków oryginalnych (referencyjnych), co otworzyło możliwość tworzenia i wprowadzania do praktyki kolejnych cząsteczek zachowujących właściwości biologiczne leku referencyjnego, produkowanych przez „bliźniacze” linie komórkowe. Spowodowało to znaczne obniżenie kosztów terapii, przez co umożliwiło poprawienie dostępności dla pacjentów.

W pracy opisano zastosowanie w leczeniu preparatów będących całymi cząsteczkami przeciwciał. W procesie wprowadzania do leczenia były one modyfikowane poprzez odpowiednie mechanizmy obróbki w celu uzyskania odpowiednich własności i modyfikacji ich powinowactwa lub awidności. W przypadku niektórych z nich przeciwciała monoklonalne połączono z lekami, izotopami lub innymi małymi cząsteczkami aktywnymi. W wyniku rozwoju technik biologii molekularnej i genetyki stworzono także grupę leków, które stanowią jedynie niewielkie fragmenty przeciwciał, zwykle są to części Fab. Wykorzystuje się ich zdolność do rozpoznawania określonego antygeny i możliwości wiązania się z nim. Cząsteczki takie z uwagi na brak części Fc pozbawione są cytotoxycznosci zależnej od dopełniacza i cytotoxycznosci komórkowej zależnej od przeciwciał. Z uwagi za znacznie mniejsze rozmiary i prostszą budowę leki te można otrzymywać w wyniku ekspresji w komórkach *Escherichia coli*, co stanowi znacznie prostszy i łatwiejszy w hodowli układ biologiczny. Lekami tego typu są np. Ranibizumab (Lucentis), Certolizumab pegol (Cimzia) czy Abcyksymab (ReoPro)-otrzymywany w komórkach ssaków.

Badania nad przeciwciałami monoklonalnymi oraz ich nowymi zastosowaniami trwają pełną parą w laboratoriach na całym świecie. Naukowcy starają się opracować metody leczenia chorób, z którymi medycyna nie potrafi sobie poradzić stosując znane dotąd metody. Co roku wiele firm farmaceutycznych donosi o opracowaniu technik produkcji nowych ludzkich przeciwciał monoklonalnych, które mogą być wykorzystywane w medycynie. Czy te i im podobne badania mogą przyczynić się do opracowania terapii na nieuleczalne obecnie choroby takie jak AIDS nowotwory? Przyszłość pokaże.

4. Literatura

1. Gryglewski W., (2015), Medical Tribune, 01, <https://podyplomie.pl/medical-tribune/17778,magiczny-pocisk-czyli-poczatki-i-rozwoj-immunologii>
2. [Paul Ehrlich German medical scientist](#) (ang.). W: *Encyclopædia Britannica*. (dostęp 2020-09-19)
3. Schwaber J., Cohen E., (1973), Nature, 244, 444-447
4. <https://www.e-biotechnologia.pl/Artykuly/Przeciwciala---budowa-i-podzial/> (dostęp 07.02.2021r)
5. Polak K., Ząbczyńska M, Pocheć E., (2019), Postępy Biologii Komórki, 46(1), 75-92
6. Napiórkowska-Baran K., Kołtan S., Zalewska J., i wsp., (2019), Alergia Astma Immunologia, 24(2), 51-58
7. Vollmar A., Zundorf I., Dingermann T.,(2015), Immunologia i immunoterapia, MedPharm Polska
8. Czołpińska M. (2021) Biochemia, 42
9. Mutshler E. et al, (2009), Farmakologia i toksykologia, MedPharm Polska.
10. Lerner R.A., (2016) Nature Rev. Immunol., 16, 498–508.
11. Muiyldermans S., Smider V.V., (2016), Curr. Opin. Immunol., 40, 7–13.
12. Gołąb J., Jakóbisiak M, Lasek W., Stokłosa T.,(2018) Immunologia. Wydawnictwo Naukowe PWN
13. Zieliński M., Płucienniczak A., (2009), Biotechnologia, 2(85), 113-122
14. Wysocki P.J. (2014), Onkologia w praktyce klinicznej, 10(4), 175-183
15. Kubczak M., Rogalińska M., (2016), Postępy Biochemii,62(4), 518-525
16. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/mabcampath-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 07.02.2021r.)
17. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/lemtrada-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 07.02.2021r)
18. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2018/20180412140787/anx_140787_pl.pdf (dostęp 07.02.2021r)
19. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zinbryta-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 07.02.2021r)
20. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/blincyto-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 07.02.2021r)

21. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/gazyvaro-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 07.02.2021r)
22. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2008/2008041844648/anx_44648_pl.pdf (dostęp 07.02.2021r)
23. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/arzerra-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 07.02.2021r)
24. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/mabthera-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 08.02.2021r)
25. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2017/20171110139025/anx_139025_pl.pdf (dostęp 08.02.2021r)
26. Szemraj Z., Jamroziak K., Robak T., (2007), *Acta Haematologica Polonica*, 38(2), 213–224
27. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/darzalex-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 10.02.2021r)
28. Pilecka M., Brzozowska A., Mazurkiewicz M., (2015), *Onkologia i Radioterapia*, 2 (32), 48-55
29. Grzywnowicz M., Giannopoulos K., (2012), *Acta Haematologica Polonica*, 43(2), 132–145
30. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/opdivo-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 10.02.2021r)
31. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/keytruda-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 11.02.2021r)
32. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/bavencio-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 11.02.2021r)
33. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/tecentriq-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 11.02.2021r)
34. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/yervoy-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 11.02.2021r)
35. Czaplicki D., Horwacik I., et al., (2009), *Acta Biochimica Polonica*, 56, 423–431.
36. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2017/20170508137709/anx_137709_pl.pdf (dostęp 11.02.2021r)
37. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/herceptin-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 11.02.2021r)
38. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kadcyla-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 12.02.2021r)

39. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/perjeta-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 11.02.2021r)
40. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/phesgo-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 12.02.2021r)
41. Walker F., Abramowitz L., et al, (2009), Human Patology, 40(11), 1517-1527
42. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/erbitux-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 11.02.2021r)
43. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vectibix-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 11.02.2021r)
44. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/humira-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 11.02.2021r)
45. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/simponi-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 11.02.2021r)
46. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/remicade-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 11.02.2021r)
47. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2014/20140522128587/anx_128587_pl.pdf (dostęp 11.02.2021r)
48. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/roactemra-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 11.02.2021r)
49. Salama C., Han J., Yau L., et al, (2021), N Engl J Med, 384, 20-30
50. https://www.aotm.gov.pl/media/2020/09/AOTMiT_COVID_19_Przegląd_Tocilizumab_v-1.0_2020.09.16.pdf (dostęp 11.02.2021r)
51. Tokatz-Deptuła B., Miller T., Deptuła W., (2011), Postępy Mikrobiologii, 50(3), 217-221
52. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ilaris-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 11.02.2021r)
53. Shinkaruk S., Bayle M., et al, (2003), Curr Med Chem Anticancer Agents, 3(2), 95-117
54. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/avastin-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 04.02.2021r)
55. Kanclerz P., Raczyńska K., (2011), Forum Medycyny Rodzinnej, 5 (4), 317-322
56. Stanowisko konsultanta krajowego ds. okulistyki w sprawie zastosowania iniekcji doszklistkowych preparatu bevacizumab, 04.08.2017, Prof dr hab. n. med. Marek Rękas, <http://adst.mp.pl/s/www/okulistyka/Avastin2017.pdf> (dostęp 04.02.2021r.)
57. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/cyramza-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 04.02.2021r.)

58. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/xolair-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 04.02.2021r.)
59. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/tysabri-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 04.02.2021r.)
60. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/entyvio-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 04.02.2021r.)
61. Okrój M., (2016),
https://doktoratyihabilitacje.gumed.edu.pl/attachment/attachment/38500/autoreferat_PL.pdf (dostęp 11.02.2021r)
62. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/soliris-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 04.02.2021r.)
63. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/stelara-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 04.02.2021r.)
64. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/xgeva-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 04.02.2021r.)
65. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/prolia-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 04.02.2021r.)
66. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/benlysta-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 05.02.2021r.)
67. Inglesby T., Henderson D., Bartlett J., et al, (1999), JAMA, 18, 1735-1745
68. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/obiltoxaximab-sfl-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 05.02.2021r.)
69. <https://www.pharmacodia.com/yaodu/html/v1/biologics/14684cb296d97bb3864a4512a9eb0789.html> (dostęp 12.02.2021r.)
70. Janikowski K., Lelonek M., (2015), Folia Cardiologica, 10(3), 178–182
71. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2015/20150923132812/anx_132812_pl.pdf (dostęp 05.02.2021r.)
72. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/repatha-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 05.02.2021r.)
73. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/empliciti-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 05.02.2021r.)
74. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/cinquaero-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 05.02.2021r.)
75. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/nucala-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 05.02.2021r.)

76. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2017/20170907138842/anx_138842_pl.pdf (dostęp 05.02.2021r.)
77. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/cosentyx-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 05.02.2021r.)
78. Joško-Ochojska J. Spandel L., (2014), Probl Hig Epidemiol, 95(3), 568-573
79. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zinplava-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 05.02.2021r.)
80. Rogala P, Rutkowski P. ,(2017), Oncol Clin Pract, 13, 1–7.
81. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/lartruvo-epar-product-information_pl.pdf (dostęp 05.02.2021r.)
82. Hager T., (2019), „Dziesięć leków, które ukształtowały medycynę”, Rebis
83. Kupczak M., Rogalińska M., (2019) Potępy Biochemii, 62 (4), 518-525
84. Tillib SV, Ivanova TI, Lyssuk T, et al (2012), Biochemistry 77, 659-665
85. Top 15 Best-Selling Drugs of 2018 <http://www.genengnews.com/a-lists/top-15-best-selling-drugs-of-2018/>