



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Předmět: Biofarmaceutika

Kurz: Bioléčiva – biofarmaceutika

4. rok studia

Terapeutické monoklonální protilátky

doc. PharmDr. Oldřich Farsa, Ph.D.

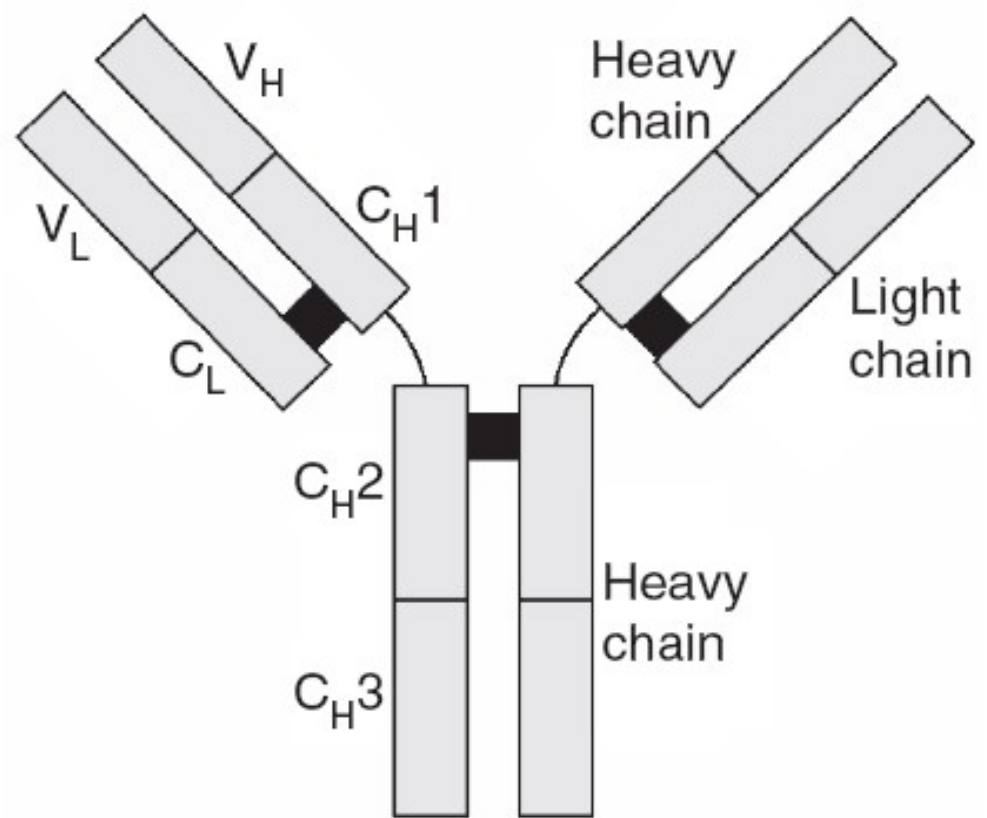
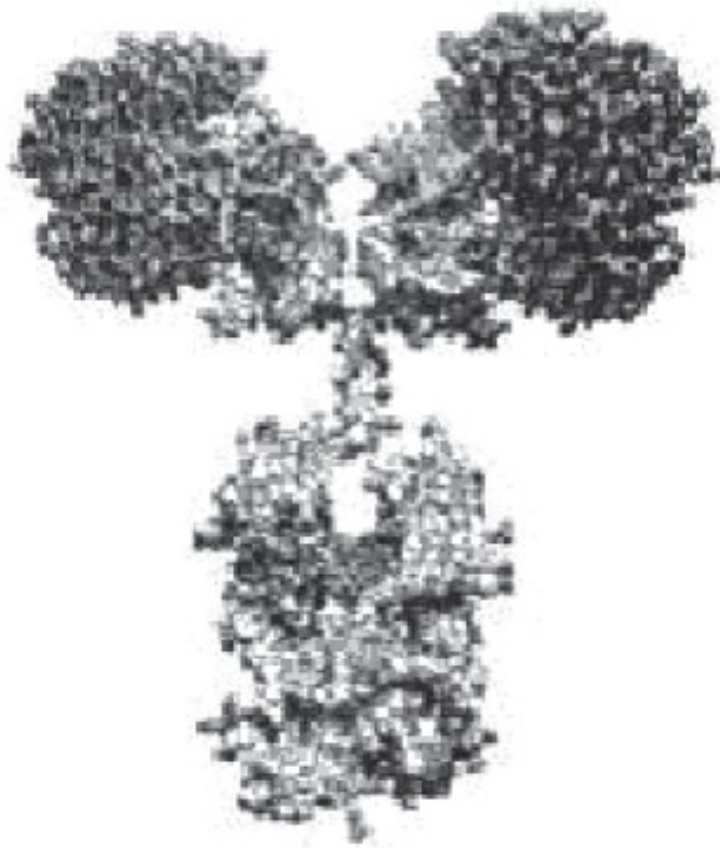
Protilátky

- produkovány B buňkami (= B lymfocyty, podskupina agranulocytů) imunitního systému
- přirovnávají ke zbraním našeho obranného systému, které se “navedou” na antigen a zničí ho
- imunoglobuliny rozdělujeme do 5 tříd:
 - imunoglobulin G a D (IgG a IgD, ~ 75%)
 - imunoglobulin A (IgA ~ 15%)
 - imunoglobulin M (IgM ~ 15%)
 - imunoglobulin E (IgE < 1%).
- glykoproteiny
- vzájemně se liší ve
 - velikosti molekuly
 - náboji
 - rozsahu glykosylace
 - sekvenci aminokyselin
- v rámci třídy definovány podtřídy; strukturní rozdíly malé

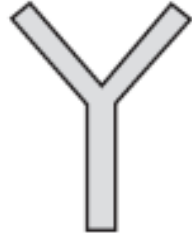
Struktura protilátky

- obvykle znázorňovaná jako uspořádání do velkého Y
- IgG je nejčastější protilátka: tetramerní molekula ze dvou (normálně) totožných **těžkých (H)** polypeptidových řetězců o asi 440 aminokyselinách a dvou (normálně) totožných **lehkých (L)** řetězců o asi 220 aminokyselinách
- čtyři řetězce drží pohromadě disulfidovými vazbami (mezi Cys) a nekovalentními interakcemi
- na lehkých i těžkých řetězcích se rozlišují úseky zvané **domény**, které se skládají z asi 110 aminokyselin v podobné sekvenci: konstantní domény C_H1 , C_H2 , a C_H3 těžkého řetězce a konstantní doména C_L lehkého řetězce
- kde je sekvence aminokyselin proměnná, rozlišují se proměnné (variabilní) domény, jedna na lehkém a jedna na těžkém řetězci V_H a V_L
- variabilita je omezena na zcela určité oblasti proměnné domény, zvané **oblasti podmiňující komplementaritu**. Tyto oblasti mají odpovídající 3D strukturu, která umožňuje vázat antigen.

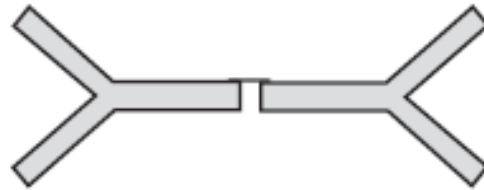
Struktura protilátky



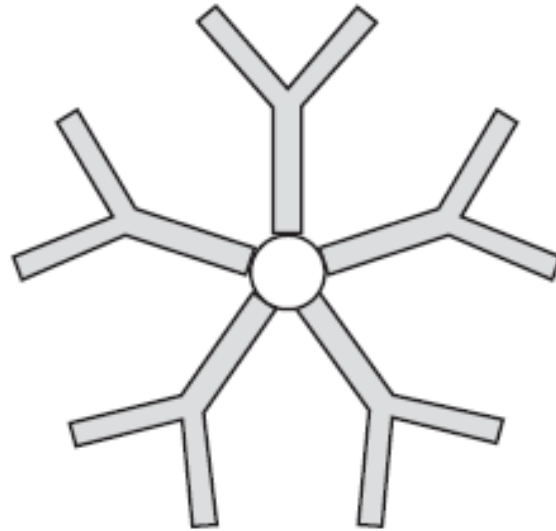
Typická kvarterní struktura imunoglobulinů jednotlivých tříd



IgG, IgD, IgE
(monomer)



IgA
(dimer)



IgM
(pentamer)

Další strukturní rysy protilátek

Protilátka může být štěpena proteasami, jako jsou papain nebo pepsin, na rozdílné fragmenty. V principu můžeme rozlišit následující:

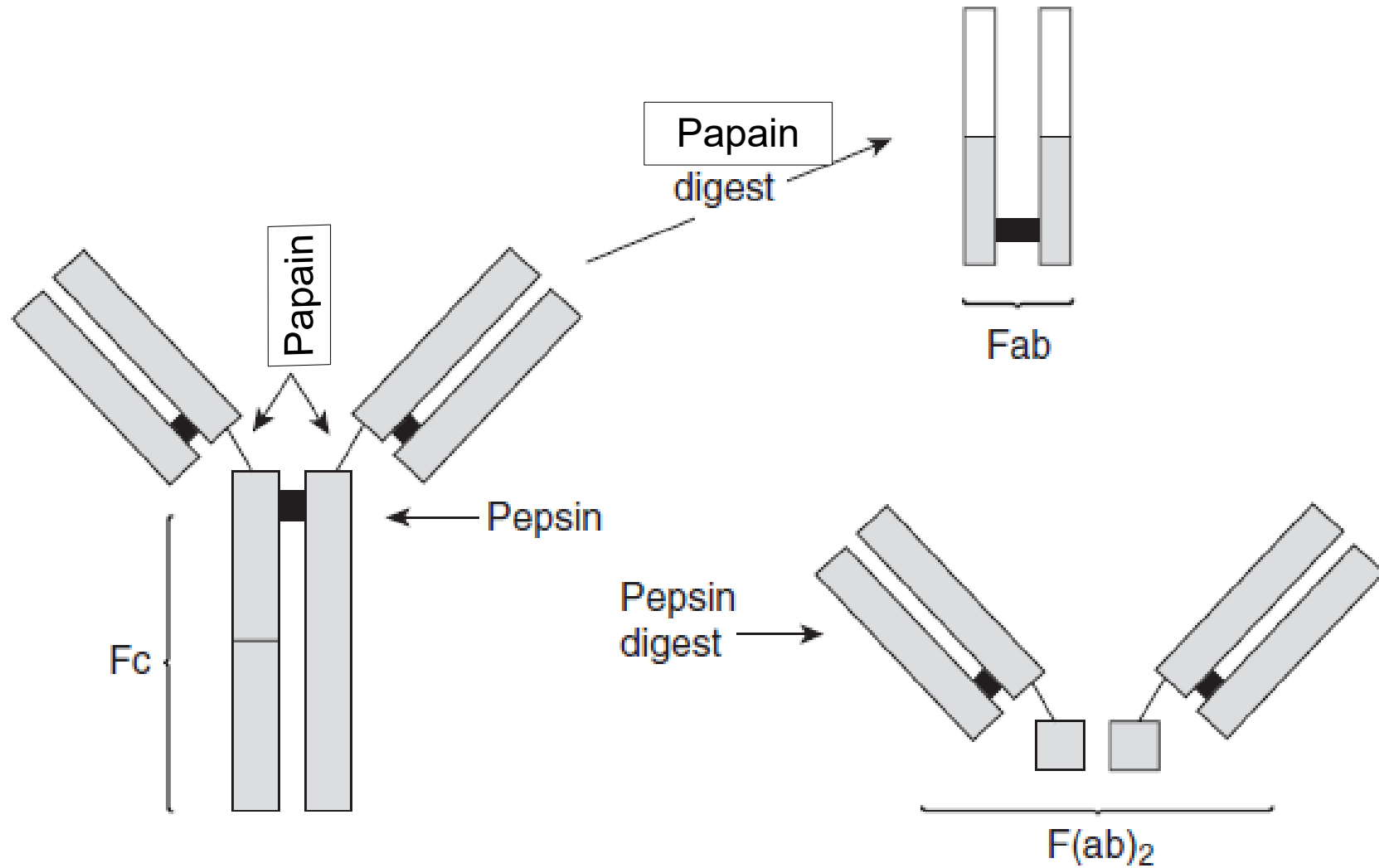
- **Variabilní (proměnný) fragment (Fv):** Konce dvou ramen písmene Y jednotlivých protilátek se významně liší. Jsou to oblasti, jenž váží epitopy antigenů a přinášejí je přirozeným zabíječům (NK) a makrofágům ke zničení.

and bring them to the natural killer cells and macrophages for destruction.

- **Fragmenty vážící antigen (Fab), Fab', a F(ab')₂ :** Různé části, jež obsahují variabilní fragment.

- **Konstantní fragment (Fc):** „Kmen“ písmene Y. Tato část je stejná pro všechny protilátky stejné třídy, např. všechny IgG mají stejný Fc. Fc spojuje protilátku s dalšími receptory a vyvolává imunitní odpověď a destrukci antigenu.

Rozdílné fragmenty molekuly protilátky, jež mohou vzniknout enzymatickou hydrolýzou



Monoklonální protilátky pro humánní použití jak je definuje Evropský (EP 7.5) a Český (ČL 2009) lékopis

Anticorpora monoclonalia ad usum humanum

Obecný článek č. 2031

Monoklonální protilátky pro humánní použití jsou přípravky charakteru imunoglobulinu nebo fragmentu imunoglobulinu, např. $F(ab)_2$ s definovanou specifitou, produkované jedním klonem buněk. Mohou být konjugovány s dalšími látkami včetně radioizotopů. Mohou být získávány ze „znesmrtelněných“ B lymfocytů, jež jsou klonovány jako stálé buněčné kultury, nebo z buněčných kultur obsahujících rekombinantní DNA.

V současnosti užívané protilátky, pocházející z rekombinantní DNA, jsou následující:

Chimérické monoklonální protilátky: proměnné domény těžkých a lehkých řetězců lidské protilátky jsou nahrazeny doménami nehumánními, jež jsou nositeli požadované antigenní specifity.

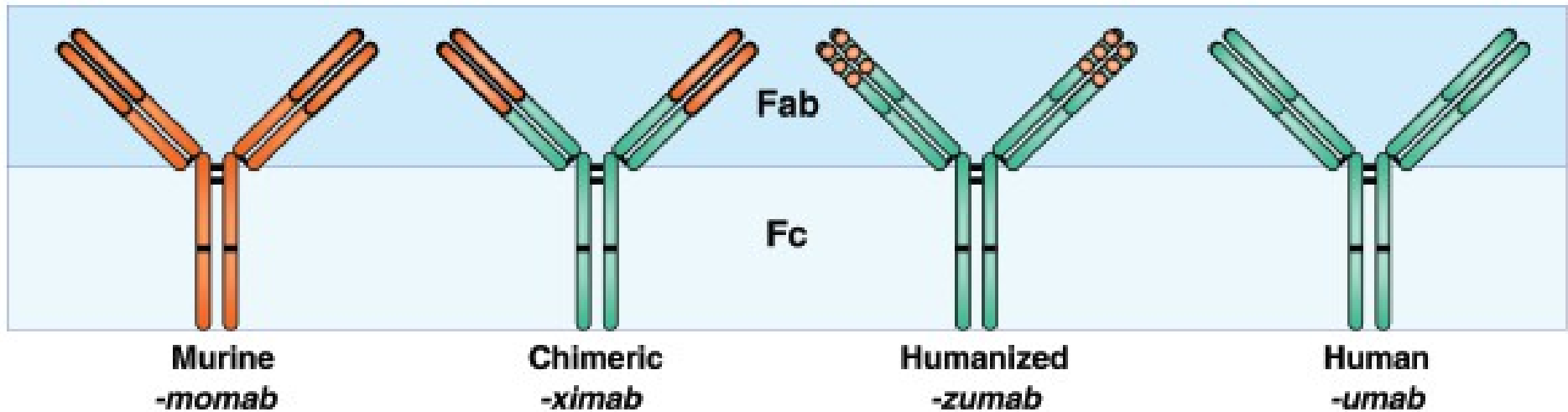
Humanizované monoklonální protilátky: 3 krátké hypervariabilní sekvence (oblasti podmiňující komplementaritu) z nehumánních variabilních domén v každém řetězci jsou uměle vloženy do variabilní domény lidské protilátky. Vazbu antigenů je možné zlepšit dalšími změnami sekvencí.

Rekombinantní humánní monoklonální protilátky: domény proměnných těžkých a lehkých řetězců lidské protilátky jsou napojeny na konstantní region lidské protilátky



EP nepředpokládá použití plně zvířecích mabů u lidí.

Ilustrace rozdílu mezi zvířecími, chimérními, humanizovanými a humánními maby a konkrétní příklady



Prefix	Target		Antibody Source		Suffix	Some Examples	
Variable	Non-tumor Target	Viral	-vir-	-u-	Human	-mab	Pali-vi-zu-mab (humanized antiviral Mab)
		Bacterial	-bac-				
		Immune	-lim-	-o-	Murine		Ada-lim-u-mab (human Mab against immune disease target)
		Infectious lesions	-les-				
		Antifungal	-fung-	-a-	Rat		E-fung-u-mab (human antifungal Mab)
		Cardiovascular	-ci(r)-				
		Neurologic	-ne(r)-	-e-	Hamster		Bapi-neu-zu-mab (humanized Mab against neurobiology target)
		Interleukins	-kin-				
		Musculoskeletal	-mul-	-i-	Primate		Uste-kin-u-mab (human anticytokine Mab)
		Bone	-os-				
	Toxin as target	-toxa-	-xi-	Chimeric	Den-os-u-mab (human antibone target Mab)		
	Tumor target	Colon	-col-	-zu-	Humanized	-mab	Ab-ci-xi-mab (chimeric Mab against CV target)
		Melanoma	-mel-				
		Mammary	-mar-				
		Testis	-got-	-axo-	Rat/murine hybrid		Ore-gov-o-mab (murine Mab for ovarian cancer)
		Ovary	-gov-				
Prostate		-pr(o)-	-xizu-	Chimeric + humanized	Adeca-tum-u-mab (human antibody against miscellaneous tumor target)		
Miscellaneous	-tu(m)-						

Konkrétní příklady terapeutických monoklonálních protilátek
Antineoplastika

Inhibitory (tkáňových) růstových faktorů

bevacizumab

Avastin®

- humanizovaná
- inhibitor angiogeneze
- protilátka proti vaskulárnímu endoteliálnímu růstovému faktoru (VEGF)
- vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF), pro-angiogenní faktor, váže se na 2 receptory VEGFR-1 (Flt-1) a VEGFR-2 (Flk-1/KDR), aktivuje receptorovou tyrosinkinasu (RTK) a indukuje angiogenezi
- VEGF a jeho receptory jsou často nadexprimovány u nádorů, proto byla angiogeneze navržena jako cíl zásahu protinádorové terapie navržena Folkmanem a kol. již v 70.letech
- bevacizumab r. 2004 povolen v USA jako LČ metastazujícího kolorektálního karcinomu v kombinaci s fluorouracilem; později i proti nemalobuněčnému nádoru plic (2006) a nádoru prsu (2008); pro stejné indikace schválen i v EU
- účinnost, samostatně nebo v kombinacích, prokázána u řady dalších nádorů včetně neuroendokrinních (nádory vycházející z nervového a hormonálního systému, mohou být funkční (sekreční) nebo nefunkční, funkční se obvykle symptomaticky léčí analogy somatostatinu; v metastazujícím stadiu špatně odpovídají na chemoterapii)
- nedávno byly zachyceny padělky Avastinu® ve Velké Británii

ramucirumab

syn. IMC-1121B

- humanizovaná
- inhibitor angiogeneze
- proti receptoru VEGFR-2
- VEGFR-2 je selektivně exprimován na nádorových endoteliálních buňkách, současně v přímém kontaktu s krví ⇒ slibný terapeutický cíl
- protilátky proti izoformě Flk-1 antagonizovaly vazbu VEGF na receptor, přenos signálu prostřednictvím VEGFR-2 a VEGF indukovaný růst endoteliálních buněk ⇒ antiangiogenní, antitumorová, antimetastatická aktivita
- klinické zkoušení: 2. fáze na kolorektální karcinom, 3. fáze na nemalobuněčný plicní nádor v kombinaci s docetaxelem, 3. fáze na nádor prostaty v kombinaci s mitoxantronem a prednisonem, 3. fáze na nádor žaludku aj.

trastuzumab

Herceptin®

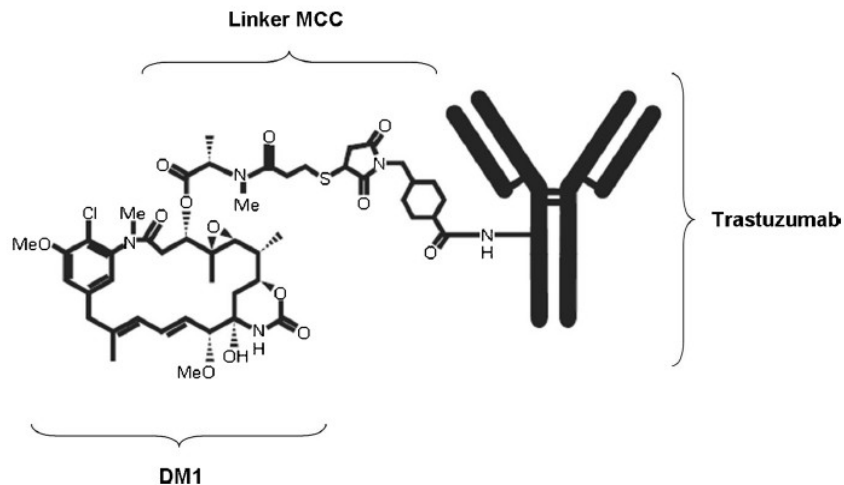
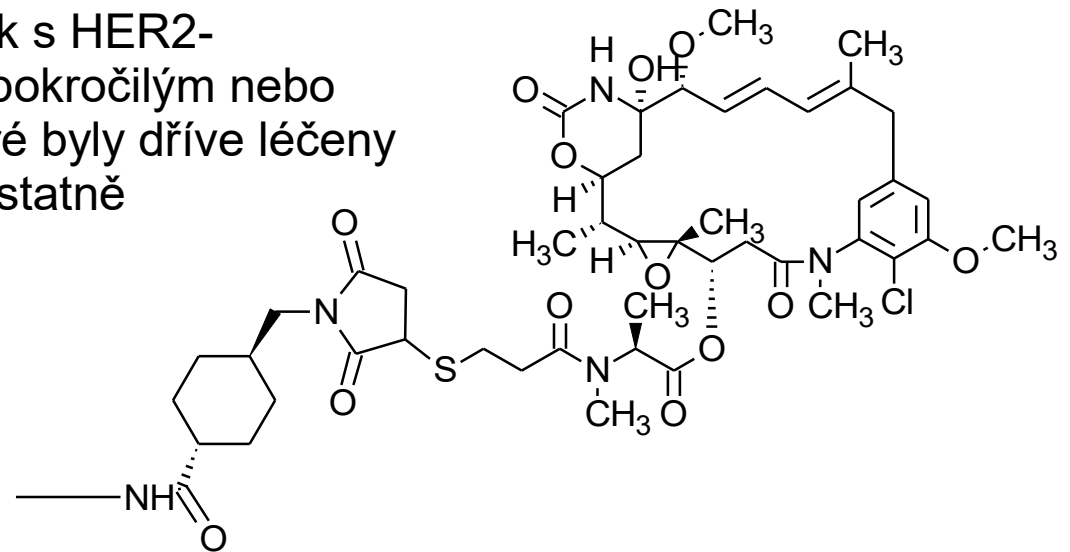
- humanizovaná
- IgG₁ κ proti HER-2 receptoru
- blokuje receptory pro epidermální růstový faktor (EGFR)
- rodina receptorů pro epidermální růstový faktor zahrnuje 4 strukturně velmi podobné receptory: Erb/HER (EGFR; HER-1, a ERBB1), humánní EGFR-2 (HER-2 a ERBB2), HER-3, a HER-4, transmembránové glykoproteiny obsahující doménu vážící extracelulární ligand a intracelulární receptorovou tyrozinkinasovou (RTK) doménu
- dysregulace cesty Erb/HER nadexpresí nebo konstitutivní aktivací může spustit nádorový proces včetně angiogeneze a metastazování a u mnoha typů lidských nádorů má špatnou prognózu
- rané studie s trastuzumabem jako jediným léčivem u HER-2 pozitivních nádorů prsu vyvolaly odezvu u 11,6 % procenta všech pacientek a u 15 % těch, u nichž se nádor znovu objevil
- jako LČ první volby u metastazujícího nádoru prsu dosáhl 26 % odezvy u HER-2 pozitivních pacientek a u 34 % pacientek s nadexpresí HER-2
- klinická studie 3. fáze s trastuzumabem v kombinaci s chemoterapeutiky prokázala celkovou odezvu u 50% (ve srovnání s 32 %), delší trvání odezvy (čas do nové progresse nádoru: 7,4 verus 4,6 měs.), **delší přežívání (25,1 versus 20,3 měsíce)** a 20% snížení rizika smrti ve srovnání s chemoterapií

trastuzumab emtansin

Kadcyla[®]

- kovalentní konjugát trastuzumabu s maytansinoidem DM1 – dysruptorem výstavby mikrotubulů
- konjugace přes 4-(*N*-maleimidomethyl)cyklohexan-1-karboxyl, napojený přes stabilní thioetherový můstek do pol. 3 maleinimidového fragmentu

• indikován k léčbě dospělých pacientek s HER2-
pozitivním neresekovatelným lokálně pokročilým nebo
metastazujícím karcinomem prsu, které byly dříve léčeny
trastuzumabem a taxanem, a to samostatně
nebo v kombinaci.



cetuximab

Erbitux[®]

- chimérická protilátka typu IgG₁
- váže se na EGFR s 5 – 10krát vyšší afinitou než endogenní ligandy
- blokuje vazbu endogenních EGFR ligandů, což vede k inhibici funkce receptoru
- způsobuje internalizaci EGFR, což může vést k jejich down-regulaci
- rovněž zasahuje cytotoxické imunitní efektorové buňky, které působí proti nádorovým buňkám, které exprimují EGFR (protilátková buňkami zprostředkovaná cytotoxicita, ADCC)
- ve zkouškách *in vitro* a *in vivo* inhibuje cetuximab proliferaci a indukuje apoptózu u lidských nádorových buněk exprimujících EGFR.
- *in vitro* inhibuje cetuximab produkci faktoru angiogeneze nádorovými buňkami a blokuje endoteliální buněčnou migraci.
- *in vivo* inhibuje cetuximab expresi faktorů angiogeneze nádorovými buňkami a vyvolává snížení nádorové neovaskularizace a metastazování.
- cetuximab povolen FDA i EMA k terapii metastazujícího kolorektálního karcinomu, exprimujících EGFR r. 2004

panitumumab

Vectibix ®

- plně humánní monoklonální protilátka typu IgG₂ proti EGFR
- vyráběna na savčí buněčné kultuře technologií založenou na rekombinantní DNA
- váže se na ligand-vázající extracelulární doménu receptoru epidermálního růstového faktoru (EGFR) a inhibuje autofosforylaci receptoru indukovanou všemi známými ligandy EGFR.
- vazba na EGFR vede k internalizaci receptoru, inhibici buněčného růstu, indukci apoptózy a snížené produkci interleukinu 8 a vaskulárního endoteliálního růstového faktoru.
- testy *in vitro* a studie *in vivo* na zvířatech prokázaly, že panitimumab inhibuje růst a přežívání nádorových buněk exprimujících EGFR
- v preparátech lidských tumorů, postrádajících expresi EGFR, nebyl protinádorový efekt panitimumabu prokázán
- přídavek panitimumabu zvyšuje účinnost radioterapie, chemoterapie i jiných protinádorových mabů
- nežádoucí kožní reakce se vyskytují u 93 % léčených

matuzumab
syn. EMD 72000

- vyvíjí Merck KgaA (Německo)
- proběhla fáze I na tolerabilitu, bezpečnost, farmakodynamiku, farmakokinetiku u pacientů s pokročilým esogastrickým adenokarcinomem
- humanizovaná typu IgG₁ proti receptoru pro EGFR HER-1
- proběhla fáze II na léčbu esogastrického adenokarcinomu, ovariálního karcinomu a pokročilého karcinomu plic

nimotuzumab Theraloc ®

- humanizovaný myší IgG₁ proti epitopu umístěnému v extracelulární doméně EGFR receptoru
- vyvíjí Wei Guo, Čína
- proběhly studie fáze II na léčbu skvamózního karcinomu hlavy a krku (+ fluorouracil, cisplatina, docetaxel) a další
- probíhá studie
 - fáze II a III na léčbu esofageálního karcinomu skvamózních buněk (+paklitaxel, cisplatina, radioterapie, chirurgie)
 - fáze II na léčbu skvamózního nádoru plic (+ docetaxel, cisplatina)
 - aj.

Protinádorové maby proti různým receptorům a signálním proteinům
na povrchu buňky

etaracizumab

Abegrin[®]

- humanizovaná
- proti $\alpha_v\beta_3$ integrinu
- integriny: rodina receptorů na povrchu buňky zodpovědných za výměnu informací mezi buňkami a extracelulární matrix (ECM), která je obklopuje
- heterodimery složené z 1 – 10 α -podjednotek a 1 z 8 β -podjednotek
- každý subtyp má specifitu pro jiný protein ECM
- jako odpověď na navázání složek ECM, jako jsou kolagen, fibronectin nebo vitronectin, jsou v buňce generovány signály, které ovlivňují růst, schopnost migrace, diferenciaci, invazivitu a přežívání buňky
- hrají důležitou roli v biologii tumoru; použitelný cíl protinádorové terapie
- $\alpha_v\beta_3$ integriny jsou exprimovány více v cévách, které se vyvíjejí, než v „dospělých“, a jsou považovány za významný faktor angiogeneze
- primárním ligandem vitronectin, reagují též s fibronectinem a trombospondinem
- prokázána souvislost $\alpha_v\beta_3$ mj. s vaskulárním endoteliálním růstovým faktorem (VEGF)
- podání myší monoklonální protilátky proti $\alpha_v\beta_3$ (LM609) přerušilo angiogenezi na kuřecí chorioalantoické membráně, vyvolanou nádorem
- v dalších studiích potvrzena schopnost zastavovat vaskularizaci nádoru a způsobovat jeho regresi bez poškození normálních zralých cév na myších modelech různých nádorů *in vitro*
- **etaracizumab** je plně humanizovaná forma
- byla prokázána exprese $\alpha_v\beta_3$ u ovariálního karcinomu myši *in vivo* a současně účinnost etaracizumabu vůči němu
- klinické studie 1. - 2. fáze pro léčbu různých nádorů (kolorektální, maligní melanom, na androgenech nezávislý nádor prostaty, nádor ledvin, lymfom) a autoimunitních zánětlivých onemocnění (psoriáza, reumatoidní artritida) byly dokončeny

alemtuzumab
MabCampath ®

- humanizovaná monoklonální protilátka typu IgG_{1κ} proti CD52
- CD52 je glykoprotein, $21\ 000 < M_r < 28\ 000$, specificky se vyskytující na povrchu lymfocytů B a T a monocytů, thymocytů a makrofágů
- alemtuzumab je produkován na suspenzní kultuře buněk ovarií čínského křečka v živném médiu
- byl vytvořen včleněním šesti oblastí podmiňujících komplementaritu, pocházejících z potkaní monoklonální protilátky IgG_{2a}, do molekuly lidského imunoglobulinu IgG₁
- způsobuje lýzu hlavně lymfocytů vazbou na CD52 zejména tam, kde je CD52 vysoce exprimován
- lýza je zprostředkována fixací komplementu a protilátkově zprostředkovanou cytotoxicitou
- antigen byl nalezen na malém procentu (< 5%) granulocytů, ale ne na erytrocytech nebo krevních destičkách
- u alemtuzumabu se neprojevilo poškození kmenových buněk hematopoetického systému nebo progenitorových buněk
- indikován pro léčbu pacientů s chronickou lymfocytickou leukémií B-buněk (B-CLL), pro něž není vhodná kombinovaná chemoterapie obsahující fludarabin

rituximab

Mabthera ®

- chiméerní myší/lidská monoklonální protilátka: glykosylovaný imunoglobulin s humánními IgG₁ konstantními oblastmi a myšími sekvencemi variabilních oblastí lehkých i těžkých řetězců
- produkován na suspenzní kultuře savčích buněk: buněk ovarií čínského křečka v živném médiu produced a čištěn afinitní a iontoměničovou chromatografií včetně specifických postupů inaktivace a odstranění virů
- váže se specificky na transmembránový antigen **CD20**, neglykosylovaný fosfoprotein umístěný na nezralých (pre-B) i zralých B-lymfocytech
- antigen je exprimován u >95 B-buněčných non-Hodgkinských lymfomů
- CD20 se nachází na normálních i maligních B-buňkách, ale ne na hematopoetických kmenových buňkách, pro-B buňkách, ostatních „normálních“ krvinkách a buňkách jiných tkání
- antigen navázáním protilátky neinternalizuje a není odstraněn z povrchu buňky
- CD20 necirkuluje v plazmě jako volný antigen, takže nemůže (jako volný) soutěžit o navázání protilátky
- Fab doména rituximabu se váže na antigen CD20 na B lymfocytech a Fc doména zajišťuje efektorové funkce, zprostředkovávající lýzu B-buňky.
- možné mechanismy efektorové zprostředkované buněčné lýzy zahrnují na komplementu závislou cytotoxicitu (CDC) vyplývající z vazby na C1q, a protilátkově zprostředkovanou buněčnou cytotoxicitu (ADCC), zprostředkovanou jedním nebo více Fcγ receptory na povrchu granulocytů, makrofágů a přirozených zabíječů (NK).
- bylo též prokázáno, že vazba rituximabu na antigen CD 20 na B lymfocytech navozuje buněčnou smrt prostřednictvím apoptosy
- indikován pro léčbu folikulárního lymfomu, CD20 pozitivního difuzního B-buněčného non-Hodgkinského lymfomu velkých buněk, chronické lymfocytární leukémie (CLL) a těžké aktivní reumatoidní artritidy

ofatumumab

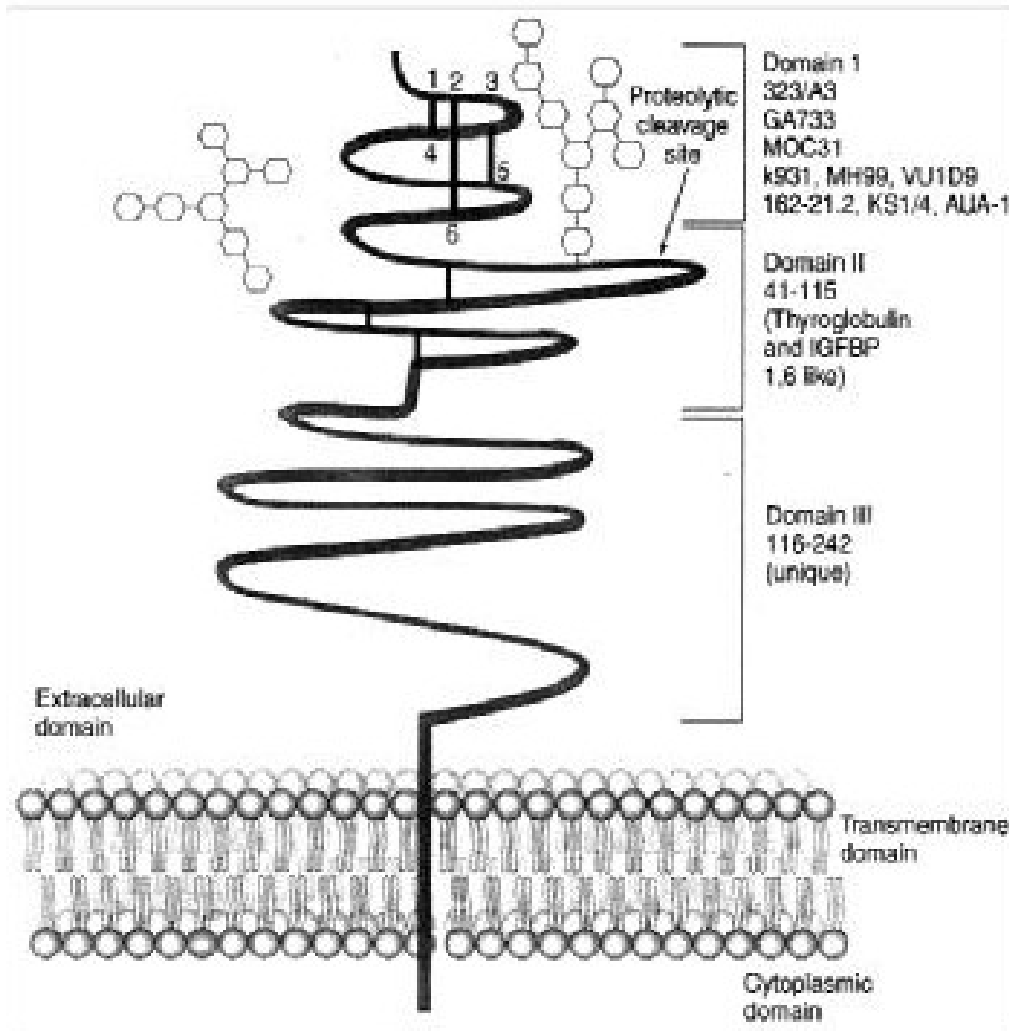
Arzerra®

- humánní monoklonální protilátka (IgG₁), jež se váže specificky na určitý epitop CD20, jenž zahrnuje malé i velké extracelulární klíčky molekuly CD20
- vyráběn na kultuře rekombinantních myších buněk (NS0)
- určen k léčbě chronické lymfocytární leukémie (CLL) u pacientů, u nichž nezabírá fludarabin a alemtuzumab
- schválen v „podmíněném schvalovacím schématu“: EMA očekává další důkazy jeho účinnosti, výhodách oproti jiným léčivům a převaze léčebného přínosu nad nežádoucími účinky
- vazba ofatumumabu na membránově-proximální epitop molekuly CD20 molekule vyvolává nábor a aktivaci komplementové cesty na povrchu buňky, což vede ke komplementem zprostředkované cytotoxicitě a výsledkem je lýza nádorové buňky
- vyvolává zřetelnou lýzu buněk s vysokou úrovní exprese obranných molekul komplementu
- vyvolává lýzu buněk s vysokou i nízkou expresí CD20, i rezistentních na rituximab
- navíc vazba ofatumumabu umožňuje nábor přirozených zabíječů, což může navodit smrt buňky prostřednictvím protilátkou zprostředkované buněčné cytotoxicity

katumaxomab

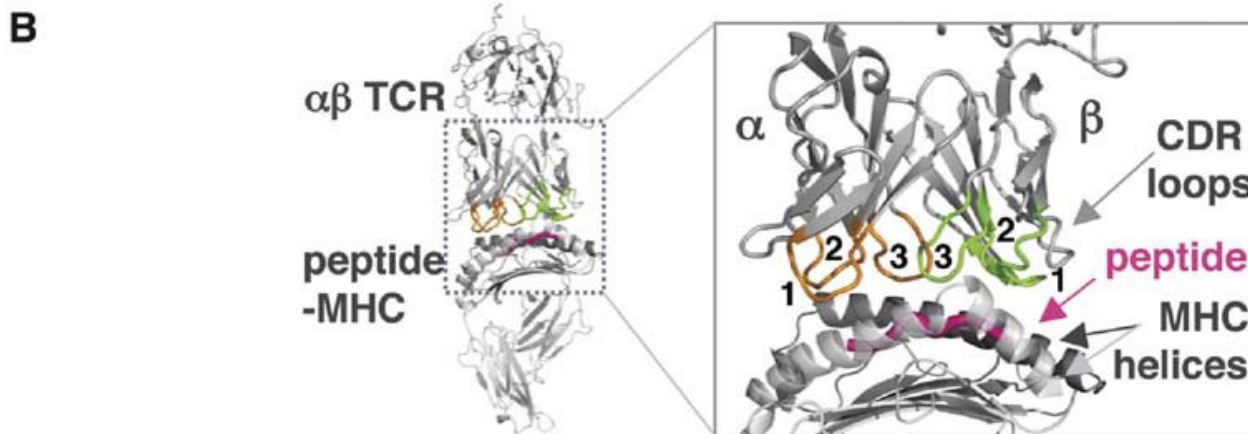
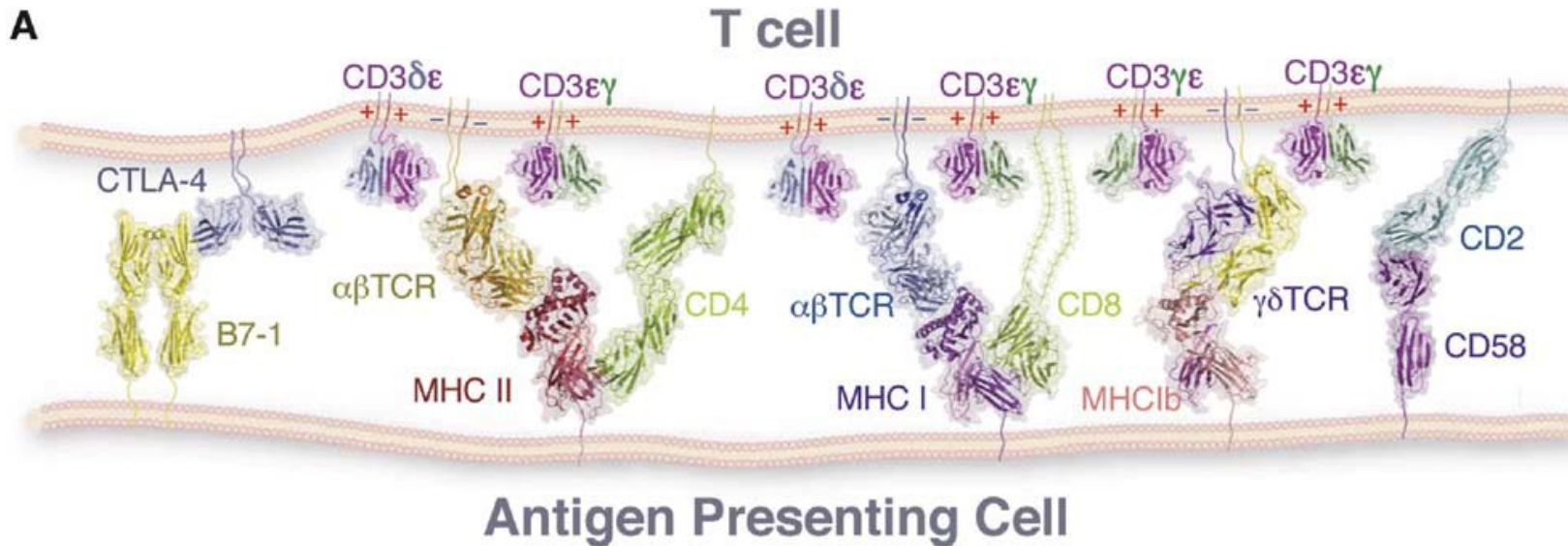
Removab ®

- trojfunkční potkaní-myší hybridní mab typu IgG₂ specificky cílený proti **epiteliální buněčné adhezí molekule (EpCAM)** a proti antigenu **CD3**
- produkovaná potkaní-myší buněčnou linií hybrid-hybridom
- EpCAM: povrchový glykoprotein humánních buněk, exprimovaný u některých „normálních“, zejména ale u nádorových („pankarcinomatický“ antigen – obj. 1979; prakticky u 100 % ovarálních karcinomů rezistentních na chemoterapii)



Terciární struktura EpCAM obsahující 3 extracelulární domény s cysteinovými -S-S- můstky (1-6) a místa glykosylace

- **CD3** je jeden z modulů pro přenos signálu exprimovaný na zralých T-buňkách
- složka receptoru T-buňky; receptor je multimerní komplex na povrchu buňky, za normálních okolností je zodpovědný za rozpoznání antigenu, který je součástí tzv. velkého komplexu histokompatibility (MHC)
- pokud se ligand, jako je katumaxomab, naváže na CD3, T-buňka je stimulována k provedení svých efektorových funkcí (uvolnění cytokinů a/nebo cytotoxicita)



Struktura a mechanismus účinku katumaxomabu

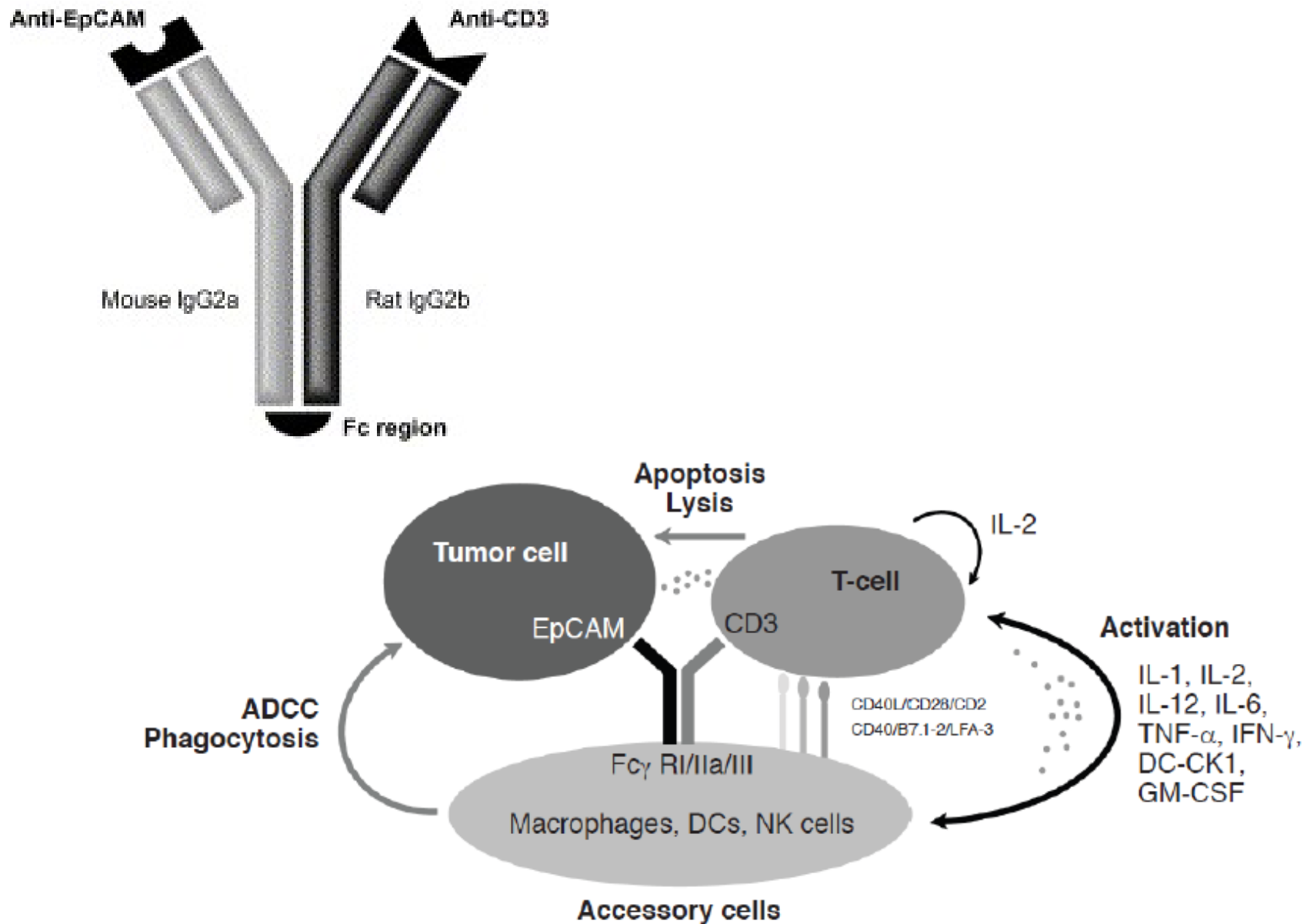


Figure 1. Catumaxomab mechanism of action. ADCC = antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, CK = cytokine, DC = dendritic cell, EpCAM = epithelial cell adhesion molecule, Fc γ R = Fc γ receptor, GM-CSF = granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, IL = interleukin, IFN = interferon, LFA = lymphocyte function-associated antigen, NK = natural killer, TNF = tumor necrosis factor.

- protinádorová aktivita katumaxomab byla prokázána jak *in vitro*, tak *in vivo*.
- efektivní zabíjení buněk tumoru zprostředkované katumaxomabem *in vitro* bylo pozorováno u cílových buněk s nízkou i vysokou expresí antigenu EpCAM nezávisle na typu tumoru.
- protinádorová aktivita katumaxomabu *in vivo* byla potvrzena v imunologicky narušeném myším modelu karcinomu ovaria, kde byl rozvoj tumoru opožděn intraperitoneální léčbou katumaxomabem a lidskými mononukleárními buňkami z periferní krve.
- katumaxomab je indikován k intraperitoneální léčbě maligního ascitu u pacientů s EpCAM pozitivními karcinomy, kde není k dispozici standardní terapie nebo již není dále použitelná.

adecatumumab

syn. MT201

- humánní
- pouze proti epiteliální buněčné adhezní molekule (EpCAM)
- 2. fáze klinického zkoušení na metastazující nádor prsu probíhala v Německu od března 2009 do listopadu 2011
- monoterapie adecatumumabem prokázala dávkově a cílově závislou klinickou aktivitu u EpCAM – pozitivních metastazujících nádorů prsu, avšak žádné objektivní zmenšení nádoru. Předpokládá se další výzkum u pacientů s nadexpresí EpCAM a menší nádorovou zátěží.

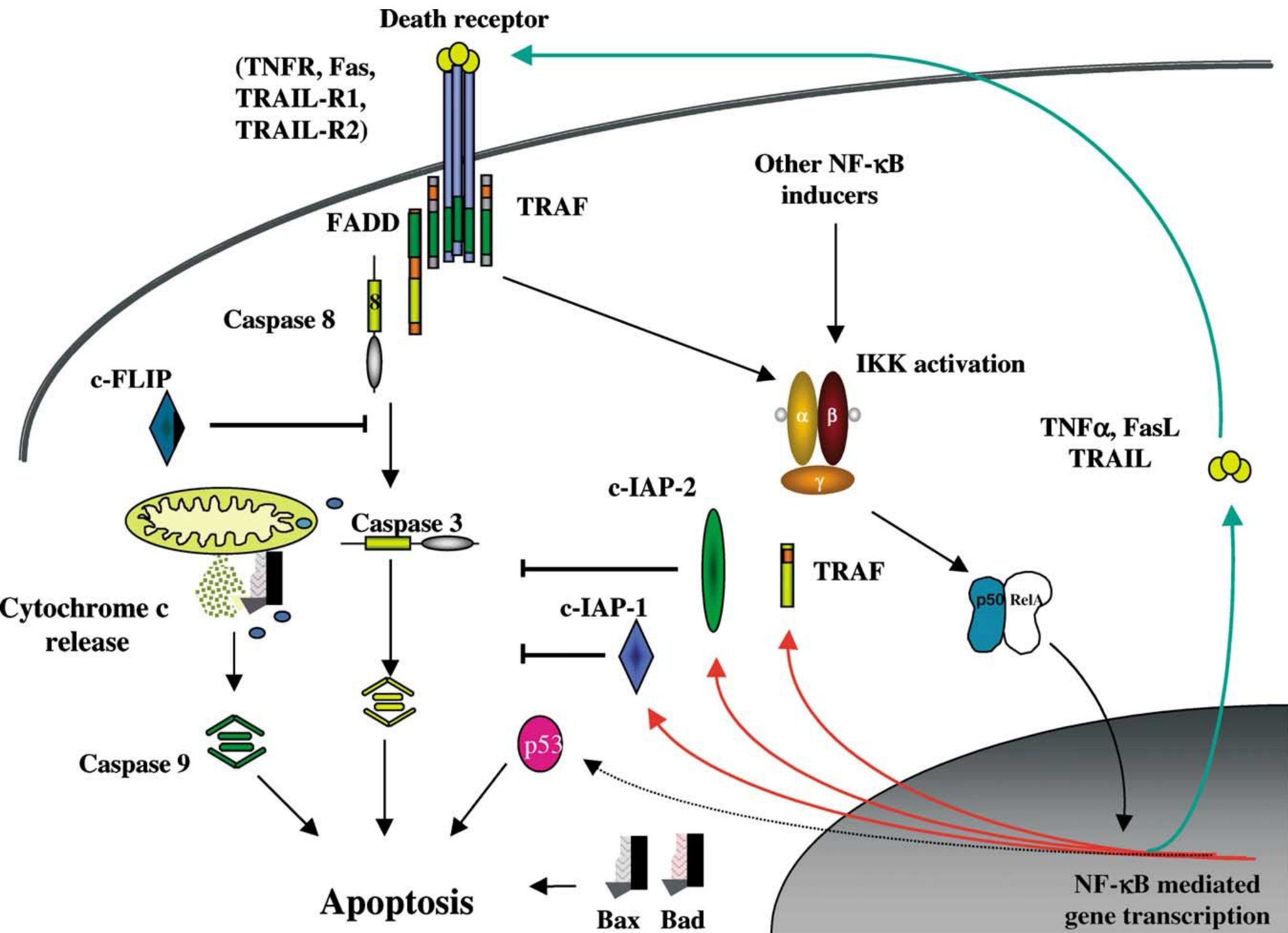
ipilimumab

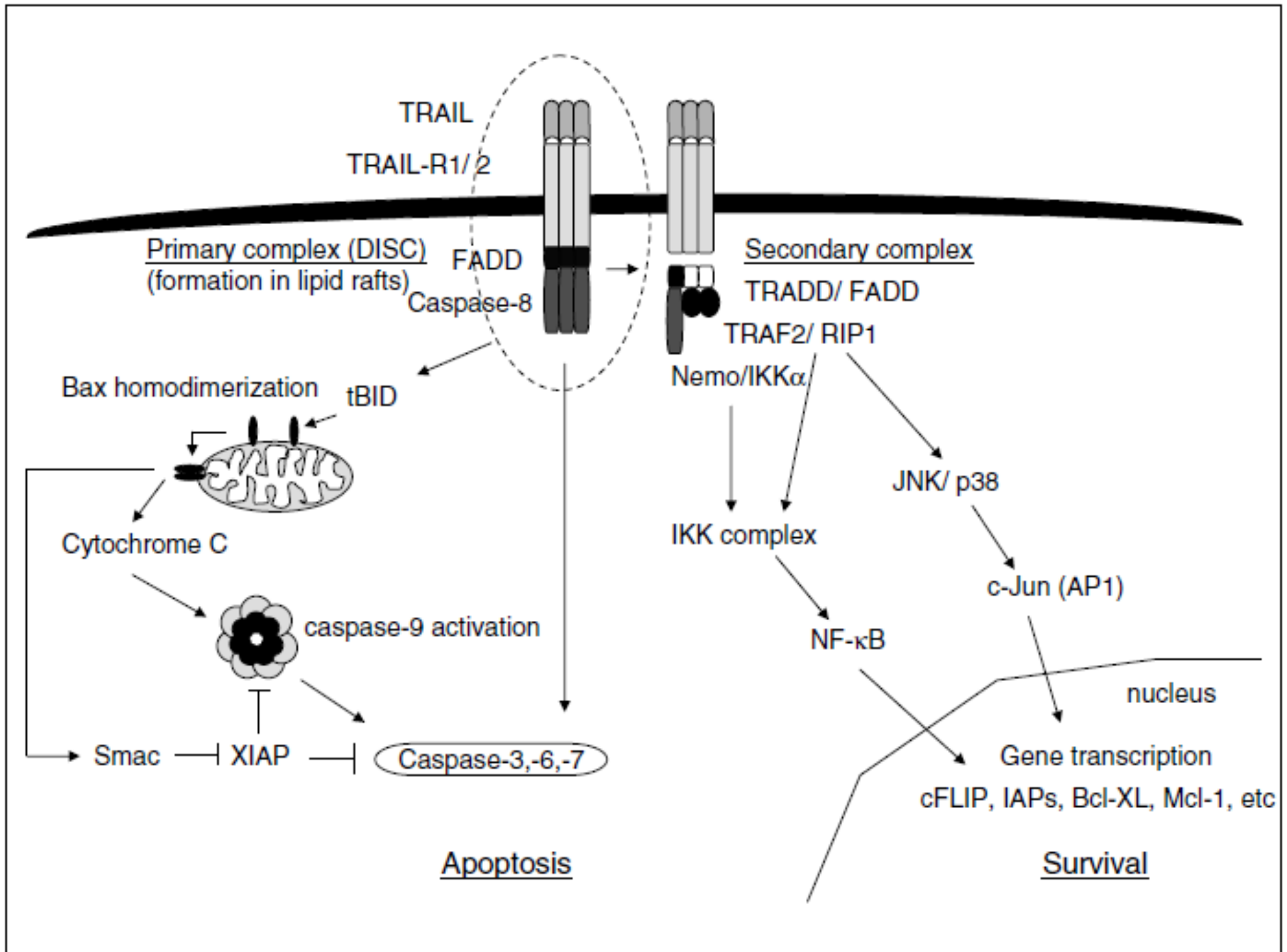
Yervoy®

- plně humánní anti-CTLA-4 monoklonální protilátka (IgG₁κ)
- vyráběná na kulturách buněk ovarií čínského křečka rekombinantní DNA technologií
- **cytotoxický T-lymfocytový antigen 4 (CTLA-4)** je negativní regulátor aktivace T-buněk
- ipilimumab je potenciátor T-buněk, který specificky blokuje inhibiční signál CTLA-4, což vede k aktivaci T-buněk, jejich proliferaci a infiltraci těchto lymfocytů do nádorů, což vede ke smrti nádorových buněk
- mechanismus účinku ipilimumabu je tedy nepřímý, zprostředkovaný posílením imunitní odpovědi prostřednictvím T-buněk
- indikován pro léčbu pokročilého (neoperovatelného nebo metastazujícího) melanomu u dospělých, kteří už prodělali nějakou předchozí terapii

lexatumumab

- protilátka typu IgG₁ – agonista TRAIL (=Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand)
- TRAIL indukuje apoptosu v tumorigenních a transformovaných buněčných liniích (kulturách), ale zřídka v normálních buňkách; interaguje se specifickými doménovými receptory smrti, DR4 a DR5, a tím navozuje intracelulární tvorbu DISC (Death Inducing Signaling Complex) v cytoplazmě. Syntéza DISC zahrnuje nábor kaspasy 8 prostřednictvím adaptorových proteinů do domény smrti aktivovaného receptoru. Aktivovaná kaspasa 8 spouští vnější apoptickou cestu přímou aktivací efektorů, např. kaspasy 3 a kaspasy 7. Kaspasa 8 může kromě toho iniciovat vnitřní apoptickou cestu aktivací proapoptického proteinu Bid. Obě cesty vedou k aktivaci kaspasy 3 a buněčné smrti.





- lexatumumab byl vyvinut pro léčbu nádorů močového měchýře a prostaty a v těchto indikacích byl úspěšně testován na králících
- klinické studie 1. fáze na dětech a mladých dospělých proběhly od prosince 2006 do prosince 2011 na pevné nádory; samostatně nebo + interferon γ
- primárním cílem bylo zjistit rozpětí maximální tolerované dávky a limitující toxicity u pacientů s rezistentním tumorem
- sekundárním cílem bylo kvantifikovat odezvu tumoru na lexatumumab
- výsledky neprokázaly zlepšení stavu, indikovaly však jistou protinádorovou aktivitu

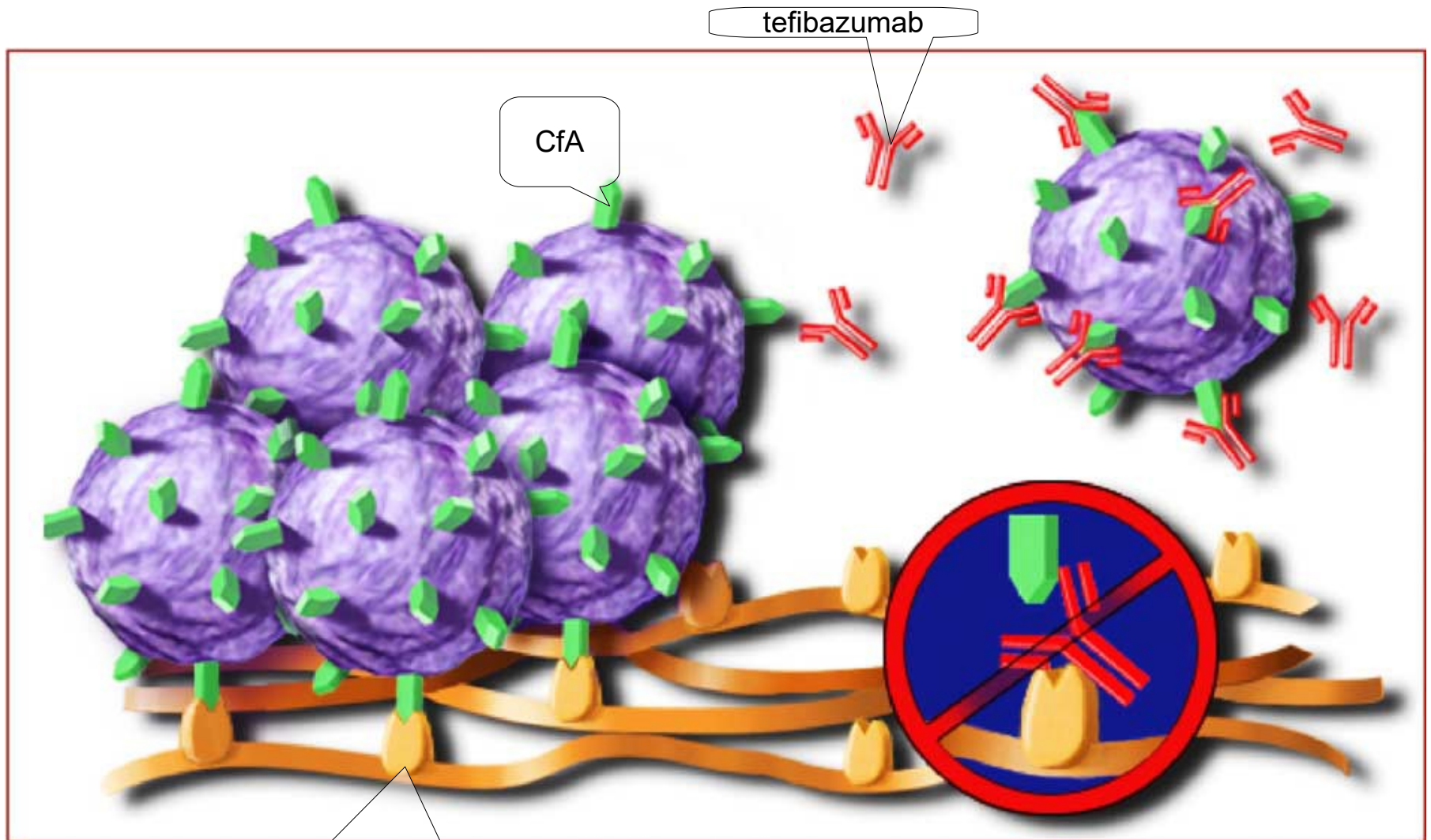
Antibakteriální látky

tefibazumab

Aurexis®

- humanizovaná IgG₁
- $M_r \sim 147\,590$
- léčivo infekcí *Staphylococcus aureus*
- váže se na povrchový epitop fibrin vážícího **agregačního faktoru A** (= „clumping factor A“; **CfA**) exprimovaného na povrchu mikroba
- CfA patří mezi povrchové adhesiny buňky *S. aureus* typu MSCRAMMs (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules), u nichž byla prokázána schopnost interagovat s vysokou afinitou a specifitou s hostitelskými tkáněmi nebo i implantáty
- CfA je adhesin vážící se na fibrinogen, považovaný za primární faktor přispívající k mikrobiální kolonizaci impantovaných materiálů nebo poškozených endoteliálních povrchů
- ukončena 2. fáze klinického testování proti stafylokokové bakteriémii a cystické fibróze kolonizované zlatým stafylokokem

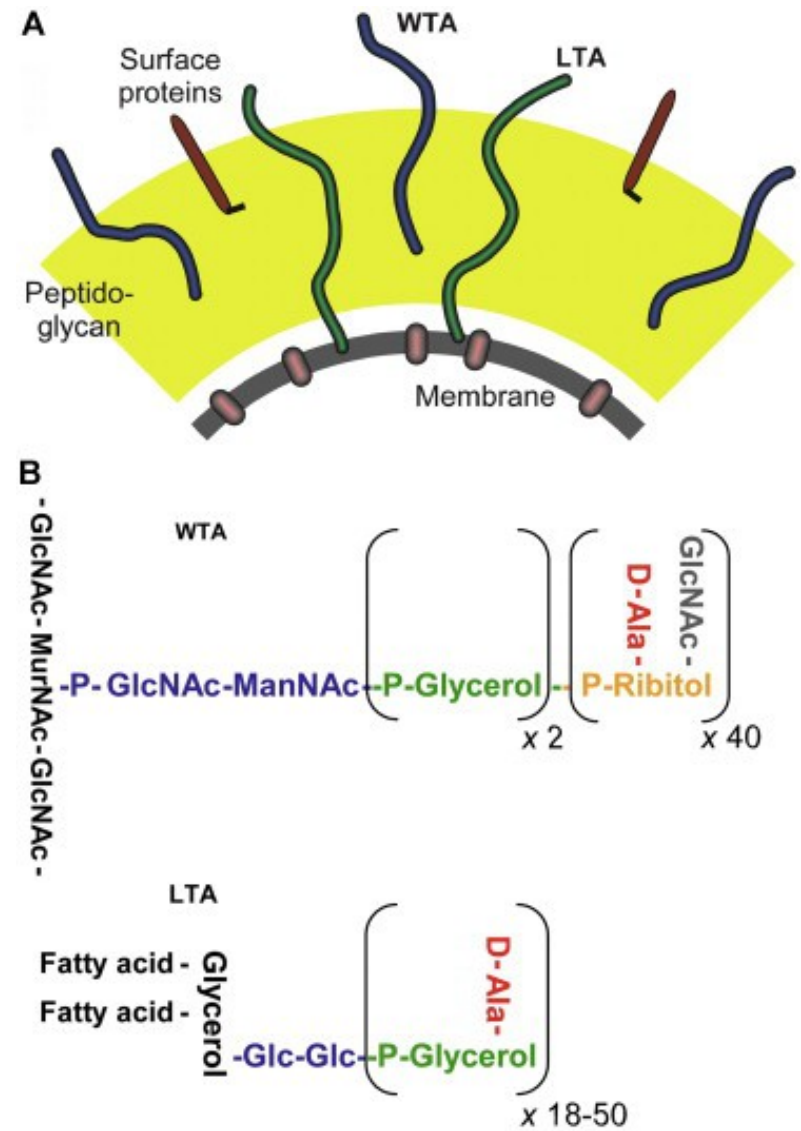
Předpokládaný mechanismus účinku tefibazumabu: inhibice mikrobiální adheze a následná „imunitní očista“ nebo fagocytóza

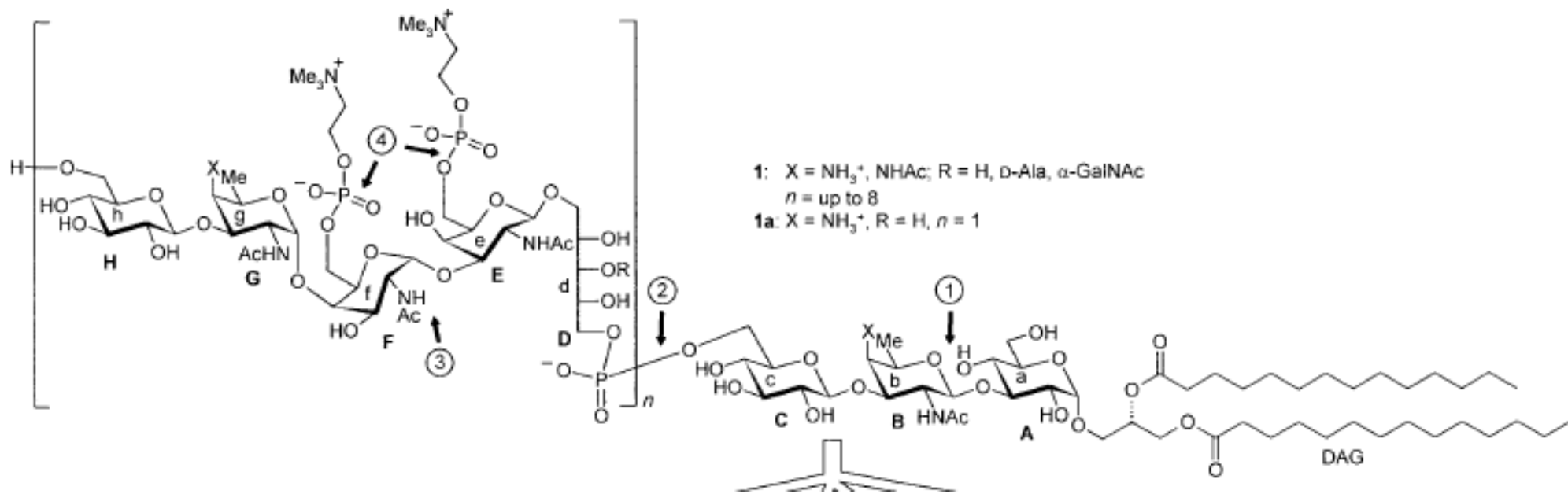


Povrch endotelu s molekulami fibrinogenu

pagibaximab
syn. BSYX-A110

- chimérní
- proti stafylokokové lipoteichové kyselině (LTA) – důležité složce buněčné stěny stafylokoků; LTA je zakotvena v buněčné membráně svým lipofilním koncem, inhibuje fagocytózu bakterií *in vitro*, indukuje kaskádu cytokinů a zdá se být nezbytná pro přežívání stafylokoků, též napomáhá průniku stafylokoků přes hematoencefalickou bariéru
- prevence stafylokokové sepse u nedonošených novorozenců s velmi nízkou porodní váhou – účinnost ověřena zaslepenou klinickou studií





Struktura lipoteichové kyseliny ze *Streptococcus pneumoniae*

raxibacumab

ABthrax ®

- humánní
- IgG_{1λ} proti „protektivnímu antigenu“, jenž je součástí anthraxového toxinu
- úspěšně testován na králících a šimpanzích nakažených vdechovanými sporama *B. anthracis*
- 3. fáze klin. zkoušení, ale na zdravých dobrovolnících – bezpečnostní studie; úspěšná
- prokázána účinnost po vystavení zkoumaného subjektu anthraxovým sporám, a to i když bakteriální toxin byl již uvolněn do krve
- součástí strategických zásob civilní obrany USA pro případ bioterorismu

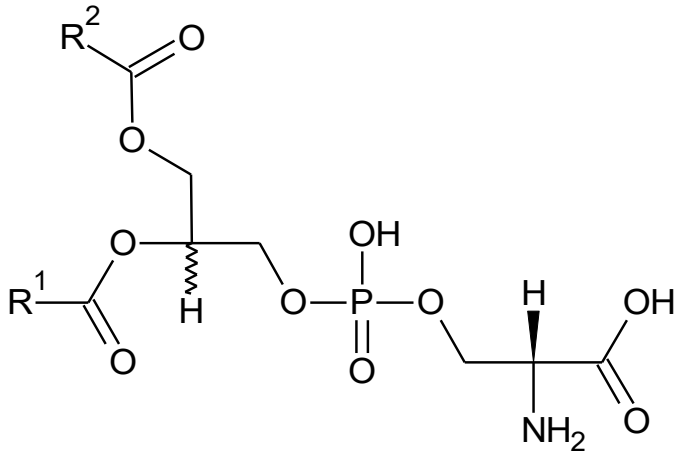
edobacomab syn. E5

- myší
- IgE proti bakteriálnímu endotoxinu
- endotoxin = lipopolysacharidová složka vnější membrány bakterií; primární iniciátor „gramnegativní sepsi“: spouští kaskádu prozánětlivých monokinů (např. TNF), což ve svém důsledku stimuluje řadu kaskád pro- a protizánětlivých kaskád ⇒ systémové znaky a orgánové dysfunkce typické pro sepsi
- látka vážící (= neutralizující) endotoxin by měla být schopna tuto kaskádu zastavit
- endotoxiny G- bakterií se od sebe značně liší, E5 se však váže na „jádro“ - sekvenci, kterou mají společnou
- v klinické studii 3. fáze nebylo jednoznačně prokázáno snížení mortality a poškození orgánů v porovnání s placebem

bavituximab

Tarvacin ®

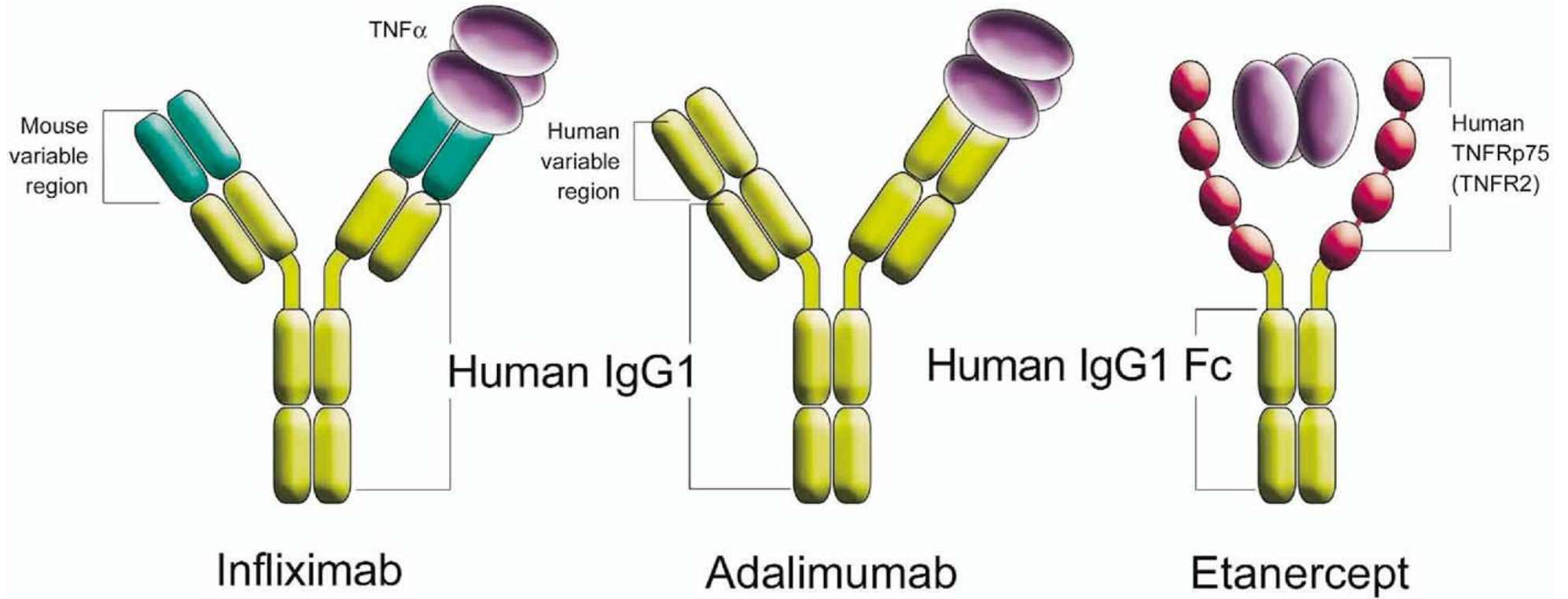
- chimerní
- proti fosfatidylserinu navázanému na β_2 -glykoprotein I
- fosfatidylserin – nejrozšířenější aniontový fosfolipid plazmatické membrány
- normálně uložen intracelulárně, u nádorů ale „trčí“ do luminálního povrchu endotelu
- podobná situace u buněk zasažených virem, kde probíhá replikace: aktivace buňky virem způsobuje ztráty intracelulárních Ca^{2+} \Rightarrow aktivace fosfatidylserinových „exportérů“ & inhibice jeho „importu“ do buňky pomocí translokas \Rightarrow „externalizace“ fosfatidylserinu
- potenciálně protinádorové a antivirové léčivo (HCV, HIV)
- probíhají studie 1. a 2. fáze na nemocných (USA, Indie...)



Fosfatidylserin

Léčiva chronických zánětlivých onemocnění

Inhibitory TNF- α



„Anti-TNF molekuly“ - váží se na TNF a neutralizují jeho aktivitu

Infliximab (Remicade ®): myší/humánní chiméra, kde jsou variabilní oblasti myší protilátky napojeny na konstantní oblasti lidského IgG₁

Adalimumab (Humira ®): (rekombinantní) humánní protilátka typu IgG₁ vyráběná na kultuře buněk ovarií čínského křečka

Golimumab (Simponi ®): rekombinantní humánní protilátka typu IgG₁ vyráběná myší hybridomovou buněčnou kulturou

Certolizumab pegol (Cimzia ®): rekombinantní, humanizovaný Fab' fragment protilátky proti TNF exprimovaný na *Escherichia coli* a konjugovaný s polyoxoethylenovým (PEG) řetězcem.

Etanercept (Enbrel ®): rozpustný dimerní fúzní protein, v němž je humánní p75 TNF receptor napojen na Fc fragment humánního IgG₁

Použití: terapie reumatoidní artritidy, zánětlivých střevních (ulcerativní kolitida, Crohnova choroba...) a dalších zánětlivých onemocnění

briakinumab
syn. ABT-874, j695

ustekinumab

- humánní
- proti interleukinům IL-12 a IL-23, hrajícím významnou roli v patogenezi mj. psoriázy
- vazba na b1 receptor T-lymfocytů a „natural killers“ ⇒ migrace do místa vzniku IL, fagocytóza...
- LČ se vážou na jejich společnou p40 podjednotku ⇒ znemožnění vazby na receptor
- klinické zkoušky- briakinumab: 1.- 3. fáze na léčbu psoriázy, Crohnovy nemoci, roztroušené sklerózy
 - ustekinumab: 2. - 3. fáze na roztr. sklerózu, psoriázu, psoriatickou artritidu