

Received: 23.05.2019
Accepted: 29.01.2020
Published: 22.05.2020

Zastosowanie nanotechnologii w immunoterapii nowotworów

The application of nanotechnology in cancer immunotherapy

Wojciech Szymanowski¹, Agnieszka Gornowicz¹, Anna Bielawska¹, Krzysztof Bielawski²

¹Zakład Biotechnologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

²Zakład Syntezy i Technologii Środków Leczniczych, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Streszczenie

Terapia celowana polega na wykorzystaniu leków zaprojektowanych przeciwko celom molekularnym. Mechanizm ich działania opiera się na hamowaniu swoistych szlaków przekazywania sygnałowego w procesach związanych z rozwojem nowotworu (prolifracji, mechanizmów naciekania, angiogenezy czy przerzutowania). Jedną z ważniejszych metod terapii celowanej jest immunoterapia, w której wykorzystuje się przeciwciała monoklonalne. Ich mechanizm działania oparty jest na indukowaniu programowanej śmierci komórki w wyniku inhibicji ściśle określonych procesów przekazywania sygnałowego. Stosowanie przeciwciał monoklonalnych napotyka jednak na wiele ograniczeń, wśród których znajdują się działania niepożądane mogące w skrajnych przypadkach zagrażać życiu pacjenta. Strategią mającą na celu pokonanie tych przeszkód było opracowanie immunokoniugatów przez połączenie przeciwciała monoklonalnego – lub jego fragmentu – z lekiem za pomocą stabilnego linkera. Ich mechanizm działania polega na łączeniu się częścią zawierającą przeciwciało monoklonalne z receptorem w błonie komórkowej, a następnie ich internalizacji, degradacji linkera i uwolnieniu związanego z przeciwciałem leku aktywującego określone geny lub białka czy też indukującego apoptozę. Immunokoniugaty mogą się stać obiecującą alternatywą dla dotychczas stosowanej terapii przeciwnowotworowej, ale podobnie jak w przypadku przeciwciał monoklonalnych, ich zastosowanie wiąże się z pewnymi przeszkodami. Z pomocą w rozwiązaniu tych problemów przychodzi nanotechnologia z systemem dostarczania chemioterapeutyków w postaci immunonanocząstek (immunonanoparticles). System wykorzystuje nanocząstki, wewnątrz których zamknięto chemioterapeutyk, w połączeniu z przeciwciałami monoklonalnymi zdolnymi do selektywnego rozpoznawania określonych celów molekularnych i wiązania się z cząsteczkami na powierzchni komórek docelowych. W artykule przedstawiono najważniejsze rozwiązania stosowane w terapii celowanej łączące tradycyjną immunoterapię z nowoczesną nanotechnologią.

Słowa kluczowe:

terapia celowana • przeciwciała monoklonalne • immunokoniugaty • immunonanocząstki

Summary

Targeted therapy is associated with the use of drugs designed against specific molecular targets. Their mechanism of action is based on the inhibition of specific signaling pathways in processes related to the development of cancer (proliferation, invasion, angiogenesis or metastasis). One of the most important methods of treatment is immunotherapy, which uses monoclonal antibodies. Their mechanism of action is based on inducing programmed cell death by inhibiting specific signal transduction processes. However, immunotherapy has a number of limitations, including side effects that may endanger the patient's life. To overcome those obstacles im-

	<p>munocojugates were developed, which combine a monoclonal antibody, or its fragment, with a drug using a stable linker. Their mechanism of action is based on the monoclonal antibody binding to a cell membrane receptor, their internalization, the degradation of the linker, and the release of the drug attached to the antibody, which then activates specific genes or proteins or induces apoptosis. Immunoconjugates represent a promising alternative for anticancer treatment used today, but their use is associated with some obstacles. Nanotechnology helps to solve these problems with a chemotherapeutics delivery system called immunonanoparticles. It uses chemotherapeutics encapsulated in nanoparticles in combination with monoclonal antibodies displaying the ability of selective recognition and binding with molecular targets on the surface of selected cancer cells. This review focuses on presenting the most important solutions used in targeted therapy, which combine traditional immunotherapy with modern nanotechnology.</p>
Keywords:	targeted therapy • monoclonal antibodies • immunoconjugates • immunonanoparticles
GICID	01.3001.0014.1527
DOI:	10.5604/01.3001.0014.1527
Word count:	6818
Tables:	2
Figures:	4
References:	75

Adres autora: mgr Wojciech Szymanowski, Zakład Biotechnologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Jana Kilińskiego 1, 15-089 Białystok; e-mail: wojciech.szymanowski@umb.edu.pl

WSTĘP

Według danych Światowej Organizacji Zdrowia nowotwory są drugą pod względem liczebności przyczyną zgonów na świecie (prawie 9 milionów przypadków śmiertelnych w 2015 r.). Corocznie przybywa 14 milionów nowych zachorowań i przewiduje się, że w ciągu dwudziestu lat odsetek chorych na nowotwory wzrośnie o 70%. Współcześnie na terapię przeciwnowotworową składają się: zabiegi chirurgiczne, radioterapia i leczenie systemowe, do którego zaliczyć można m.in. chemioterapię i hormonoterapię. Pozytywna odpowiedź na stosowane leczenie zależy od rodzaju nowotworu i może wynosić prawie 20% w raku płuc i około 75% w raku jelita grubego. Nadziejemy na bardziej skuteczną i bezpieczną terapię przeciwnowotworową przyniosły odkrycia ostatnich dwóch dekad. Lepsze zrozumienie procesów proliferacji komórek nowotworowych, mechanizmów naciekania, angiogenezy czy przerzutowania umożliwiło zaprojektowanie leków, które mogłyby wybiórczo hamować szlaki komórkowego przekazywania sygnałów. Wówczas nastąpił zwrot w podejściu do chemioterapii, dzięki czemu przedstawiono nową strategię walki z nowotworami – terapię celowaną. Można ją zdefiniować jako terapię lekami działającymi w selektywny sposób na białka sygnałowe komórek nowotworowych. W przeciwieństwie do konwencjonalnych terapii, terapia celowana powinna hamować proliferację komórek nowotworowych przez różnego rodzaju interakcje ze swoistymi cząsteczkami niezbędnymi w rozwoju i wzroście guza. Cząsteczki te w porównaniu do tych w komórkach prawidłowych wykazują najczęściej różne mutacje i nadekspresje [21, 53].

Do dwóch głównych typów terapii celowanych zalicza się drobnocząsteczkowe inhibitory oraz przeciwciała monoklonalne. Terapia celowana pozwoliła na rozwinięcie terapii projektowanych indywidualnie dla konkretnych pacjentów, ponieważ stosowane w niej leki mogą skuteczniej działać u osób, u których nowotwory wykazują swoiste cele molekularne. Różnice w działaniu mogą zależeć od płci pacjentów, ich pochodzenia etnicznego czy histologii nowotworu. Celem molekularnym w tego rodzaju terapiach są głównie szlaki sygnałowe receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR, zwanego również HER1), czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGF) oraz HER2/neu. Szlaki te mogą być hamowane na wielu poziomach przez: wiązanie i unieczynnianie ligandów, blokowanie miejsc wiązania ligandów na receptorach, hamowanie receptorowego przekazywania sygnału w komórce nowotworowej czy też wpływanie na ekspresję wewnątrzkomórkowych cząsteczek [21, 47]. Szczególnie zainteresowanie terapią celowaną wiąże wciąż rozwijająca się medycyna molekularna, która łączy współczesne terapie przeciwnowotworowe z nowoczesnymi technikami biochemicznymi i nanotechnologią.

PRZECIWCIAŁA MONOKLONALNE

Wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych w onkologii naukowcy zainteresowali się już pod koniec XIX w. Wówczas to Richet i Hericourt podali cierpiącym na mięsaka kości surowicę otrzymaną w wyniku immunizacji zwierząt komórkami guza [67]. Prawdziwy przełom nastąpił jednak dopiero w 1975 r., kiedy to Köhler i Milstein opracowali technikę tworzenia linii komórkowych zdol-

nych do wytwarzania przeciwciał monoklonalnych [36]. W 1997 r. Amerykańska Agencja do spraw Leków i Żywności (FDA) zarejestrowała pierwsze przeciwciało monoklonalne – rituksimab – które zastosowano w chłoniakach nieziarniczych wywodzących się z limfocytów B [65].

Przeciwciała monoklonalne są wytwarzane przez jeden klon limfocytów B i wykazują jednakową swoistość wobec danego antygeny oraz identyczne lub podobne do niego powinowactwo. Zdecydowana większość przeciwciał monoklonalnych w terapii przeciwnowotworowej ma charakter immunoglobulin klasy G (IgG), które charakteryzują się długim półtrwaniem we krwi dochodzącym nawet do 21 dni [47]. Pierwszymi wykorzystywanymi w leczeniu ludzi przeciwciałami były przeciwciała obcogatunkowe (najczęściej mysie) pozyskiwane z limfocytów B zwierząt immunizowanych odpowiednim antygenem. Metodę otrzymywania przeciwciał monoklonalnych opracowali w 1975 r. Köhler i Milstein, za co w 1984 r. otrzymali Nagrodę Nobla [36]. Indukowały one jednak silną odpowiedź immunologiczną gospodarza, co znacznie ograniczało ich zastosowanie. Podjęto próby ich modyfikacji genetycznych, dzięki czemu udało się na poziomie DNA doprowadzić do zastąpienia regionu stałego łańcuchów lekkiego i ciężkiego przeciwciała mysiego analogicznymi fragmentami przeciwciała pochodzenia ludzkiego. W ten sposób otrzymano przeciwciała chimerowe będące w 65–90% przeciwciałami ludzkimi. Dalsze próby doprowadziły do otrzymania przeciwciał humanizowanych, które w 95% są przeciwciałami ludzkimi. Rozwój inżynierii genetycznej umożliwił tworzenie przeciwciał całkowicie ludzkich, co znacznie zmniejszyło ryzyko wystąpienia reakcji immunologicznej. Typ przeciwciała terapeutycznego można rozpoznać po jego międzynarodowej nazwie. We wszystkich zawarta jest wspólna końcówka „-mab”, przed którą występuje litera (lub litery) odpowiadające typowi przeciwciała. Dla przeciwciał pochodzenia mysiego jest to „o”, dla przeciwciał chimerowych „xi”, humanizowanych „zu”, a ludzkich „u” [65].

Mechanizm działania przeciwciał monoklonalnych stosowanych w nowotworach polega na indukowaniu programowanej śmierci komórki przez inhibicję procesów przekazywania sygnałowego. Odbywać się to może przez: eliminowanie liganda, blokowanie miejsca wiązania liganda, modyfikowanie aktywności receptora lub blokowanie jego dimeryzacji. Przeciwciała monoklonalne mogą również aktywować odpowiedź immunologiczną przez uruchomienie mechanizmu cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC) lub cytotoksyczności zależnej od dopełniacza (CDC). Ponadto mogą wpływać na niektóre elementy środowiska guza, np. jego angiogenezę (przez szlak sygnałowy związany z receptorem naskórkowego czynnika wzrostu – EGFR). Ponadto przeciwciała te mogą przenosić toksyczny ładunek w postaci radioizotopu, toksyny lub leku cytostatycznego o małej masie cząsteczkowej. Przykładowo, trastuzumab (Herceptin®) – humanizowane przeciwciało – skierowane jest przeciwko receptorowi HER-2, który należy do rodziny

receptorów naskórkowego czynnika wzrostu. W niektórych nowotworach (zwłaszcza w raku piersi) zaobserwowano nadekspresję tego receptora, co wiąże się z gorszym rokowaniem i znacznie bardziej złośliwym przebiegiem choroby. Trastuzumab łączy się z zewnątrzkomórkowym fragmentem HER-2 i w ten sposób powoduje zahamowanie przekazywania sygnałowego do jądra komórkowego, blokując zdolność proliferacyjną komórek. Ponadto przeciwciało to stymuluje cytotoksyczność zależną od układu dopełniacza i przeciwciał. Stosowany natomiast w raku jelita grubego bewacyzumab (Avastin®) – humanizowane przeciwciało przeciwko czynnikowi wzrostu śródbłonka naczyńowego (VEGF) – zapobiega reakcji ligand-receptor, blokując w ten sposób przekazywanie sygnału do środowiska wewnątrznej komórki. Przykładem przeciwciała monoklonalnego blokującego wiązanie liganda z receptorem jest cetuksimab (Erbix®) – chimerowe przeciwciało skierowane przeciwko receptorowi naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR). Przez przyłączenie się do zewnątrzkomórkowej domeny receptora utrudnia wiązanie liganda z EGFR, sprzyjając jego internalizacji i degradacji.

Z aktywacją cytotoksyczności zależnej od dopełniacza (CDC) jest związany rituksimab (MabThera®) – chimeryczne przeciwciało monoklonalne, którego celem molekularnym jest CD20. By jednak doszło do aktywacji układu dopełniacza, muszą zostać spełnione ściśle określone warunki, do których zaliczyć można: odpowiednie stężenie danego antygeny na powierzchni komórki, jego przestrzenną orientację w błonie komórkowej, jak również to, czy jest on monomerym lub też polimerem. Aktywacja CDC przez rituksimab polega na tworzeniu wiązań krzyżowych między tetramerami antygeny [13, 21, 23, 24, 25, 40, 65].

Stosowanie przeciwciał monoklonalnych wiąże się z wieloma ograniczeniami. Skuteczność terapii może zależeć od różnych czynników związanych z samymi przeciwciałami, cechami charakteryzującymi nowotwór czy indywidualnymi uwarunkowaniami immunologicznymi pacjenta. Przede wszystkim należy uwzględnić, że przeciwciała monoklonalne są dość dużymi cząsteczkami, co może ograniczać ich dystrybucję wewnątrz naczyń krwionośnych guzów litych, a także wpływać na ich penetrację do wnętrza tych guzów. Szacuje się, że pojedyncza cząsteczka IgG na pokonanie odcinka 1 mm wewnątrz guza może potrzebować nawet dwóch dni, natomiast odcinka 1 cm nawet 7–8 miesięcy [47, 65]. Oprócz niewielkich działań niepożądanych, do których zaliczyć można: gorączkę, dreszcze, bóle głowy, osłabienie, nudności, wymioty, biegunkę, obniżenie ciśnienia krwi czy wysypki, stosowanie przeciwciał monoklonalnych niesie ze sobą ryzyko wystąpienia reakcji immunologicznej. Następstwem jest tworzenie przeciwciał skierowanych przeciwko cząsteczce leku, co może doprowadzić do zniesienia efektu terapeutycznego, wywołać objawy autoimmunologiczne i wpłynąć na farmakokinetykę leku. Mimo że wprowadzenie przeciwciał mających coraz więcej fragmentów pochodzenia ludzkiego (a nawet będących całkowicie ludzkimi) ograni-

czyło w dużym stopniu immunogenność przeciwciał monoklonalnych, to wciąż jeszcze w praktyce klinicznej obserwuje się u pacjentów poddawanych terapii różnego typu odpowiedzi immunologiczne i reakcje niepożądane. Przykładem może być stosowany w raku jelita grubego bewacyzumab, który wpływa na angiogenezę guza przez hamowanie szlaku sygnałowego HER2/neu wywołując również efekty obwodowe, takie jak: podwyższenie ciśnienia krwi, krwawienia, zmniejszenie zdolności do gojenia ran, zatory czy uszkodzenia nerek [6, 47, 60].

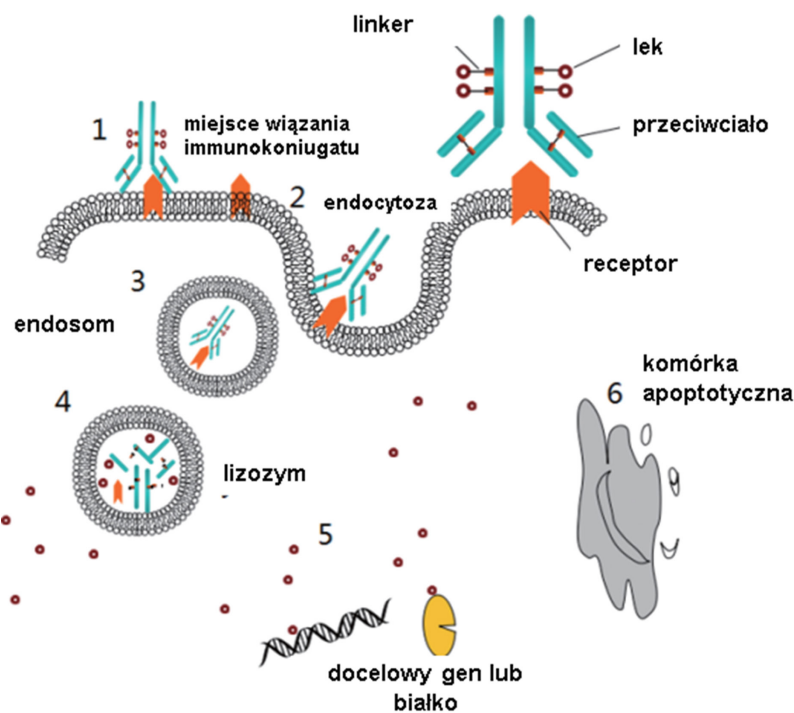
IMMUNOKONIUGATY

Immunokoniugaty są nową strategią zwalczania nowotworów. W skład takiego immunokoniugatu wchodzi przeciwciało lub jego fragment połączone stabilnym linkerem z lekiem [14, 38]. Mechanizm działania immunokoniugatów polega na ich łączeniu z receptorem w błonie komórkowej, następnie internalizacji, a w rezultacie na degradacji przez enzymy lizosomalne i uwolnieniu leku, który aktywuje określone geny lub białka. Immunokoniugaty mogą także indukować programowaną śmierć komórki – apoptozę (ryc. 1).

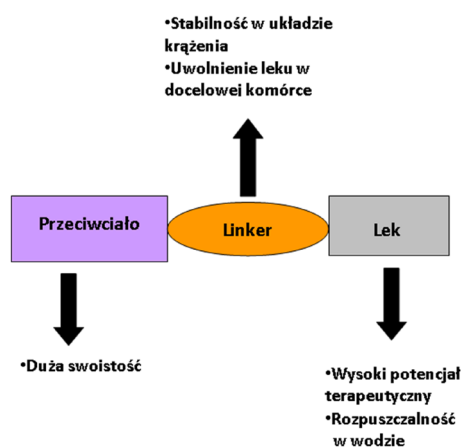
„Pierwszą generację” immunokoniugatów otrzymano po połączeniu powszechnie stosowanych leków, takich jak metotreksat, doksorubicyna z przeciwciałami monoklonalnymi [8]. Na podstawie wyników badań dotyczących „pierwszej generacji” immunokoniugatów stwierdzono, że charakteryzują się niezadowalającym potencjałem terapeutycznym. Otrzymane koniugaty cechowały się

mniejszą aktywnością cytotoksyczną w porównaniu ze stosowanymi lekami. Nie udało się osiągnąć odpowiedniego stężenia leku, które spowodowałoby śmierć komórek nowotworowych. Innym problemem było zastosowanie odpowiedniego linkera tak, aby gwarantował dużą skuteczność zastosowanej terapii przeciwnowotworowej. Problemem były także przeciwciała monoklonalne. W „pierwszej generacji” immunokoniugatów stosowano przeciwciała mysie, częściowo mysie lub częściowo zhumanizowane (chimeryczne), które wywoływały odpowiedź układu immunologicznego gospodarza [7].

W celu uzyskania sukcesu terapeutycznego z zastosowaniem immunokoniugatów musi być spełnione kryterium swoistości (ryc. 2). Przeciwciała monoklonalne powinny się charakteryzować dużą swoistością w stosunku do antygeny. Muszą być tak wyselekcjonowane, aby w jak najmniejszym stopniu wiązały się z komórkami prawidłowymi, a miały powinowactwo w stosunku do komórek nowotworowych. Przeciwciała mysie powinny być zastąpione przez przeciwciała humanizowane, które nie są tak immunogenne jak obcogatunkowe. Istotną rolę odgrywa również dobór chemioterapeutyku, który powinien się cechować dużym potencjałem cytotoksycznym w stosunku do linii komórek nowotworowych hodowanych w warunkach *in vitro* oraz rozpuszczalnością w roztworach wodnych. Ważnym elementem jest również dobór odpowiedniego linkera, który zapewni stabilność immunokoniugatowi w układzie krwionośnym pacjenta, natomiast dopiero wewnątrz komórki docelowej uwolni chemioterapeutyk [7].



Ryc. 1. Mechanizm działania immunokoniugatów



Ryc. 2. Cechy immunokoniuagatu

W „drugiej generacji” immunokoniuagatów w skład koniuagatu – oprócz przeciwciała – wchodziła majtanzyna – związek o silnych właściwościach antymitotycznych. Jednak wyniki badań klinicznych nie potwierdziły skuteczności tego koniuagatu [29]. Dalsze eksperymenty objęły badania z udziałem analogów majtanzyny [7]. Linker został tak zaprojektowany, aby był bardzo trwały w układzie krążenia i ulegał rozpadowi dopiero w komórce docelowej. Immunokoniuugat huC242-DM1 zawiera majtanzinoid DM1 przyłączony do humanizowanego monoklonalnego przeciwciała huC242. Przeciwciało to rozpoznaje antygen na powierzchni komórek raka jelita grubego, trzustki, żołądka i niedrobnokomórkowego raka płuc. W badaniach *in vitro* udowodniono, że huC242-DM1 charakteryzuje się 1000-krotnie silniejszymi właściwościami cytotoksycznymi wobec komórek raka jelita grubego COLO 205, w porównaniu do linii A-375 niewykazującej ekspresji tego antygenu [17].

Następnie oceniono, czy wzrost selektywności i wydłużenie okresu półtrwania immunokoniuagatu wiąże się z lepszymi właściwościami przeciwnowotworowymi. Porównano skuteczność koniuagatu C242-DM1 z niesprzężoną majtanzyną, 5-fluorouracylem oraz irinotekaniem, czyli najczęściej stosowanymi lekami w nowotworach jelita grubego. Jedynie immunokoniuugat spowodował całkowity zanik guza i okazał się całkowicie nietoksyczny dla zwierząt [17]. Naukowcy stale prowadzą badania nad sprzężaniem majtanzinoidów z przeciwciałami monoklonalnymi. Umożliwia to sprzężanie związków, które w monoterapii okazują się bardzo toksyczne. W badaniach klinicznych udowodniono, że majtanzyna stosowana samodzielnie działa toksycznie na przewód pokarmowy i wywołuje neuropatię, natomiast w postaci immunokoniuagatu objawy niepożądane nie występują albo przyjmują bardzo łagodną postać.

Innym przykładem jest koniuugat oznaczony symbolem Anty-B4-DC1, który rozpoznaje antygen CD19 w komórkach białaczki ludzkiej. W skład koniuagatu wchodzi

związek DC1 o silnych właściwościach cytotoksycznych będący pochodną adozelesiny. Badania przeprowadzone na linii komórek białaczki Namalwa wykazały dużą cytotoksyczność immunokoniuagatu [9, 33].

Obecnie dwadzieścia pięć immunokoniuagatów znajduje się na różnych etapach badań klinicznych. Amerykańska Agencja do Spraw Leków i Żywności zarejestrowała kilka immunokoniuagatów, w tym m.in.: trastuzumab emtansine, inotuzumab ozogamicin i polatuzumab vedotin-piiq oraz warunkowo dopuściła gemtuzumab ozogamicin i brentuximab vedotin (tab. 1).

W ciągu ostatniej dekady nastąpił bardzo duży postęp w technologii tworzenia immunokoniuagatów. Aktywne związki są uwalniane z połączenia z przeciwciałami wykazującymi aktywność przeciwnowotworową, takimi jak trastuzumab lub niewykazujących takich właściwości po zastosowaniu ich w monoterapii: brentuximab i lorwotuzumab. Ponadto charakteryzują się cytotoksycznością nie tylko w stosunku do nowotworów hematologicznych (brentuximab vedotin, SAR3419), ale także guzów litych (trastuzumab emtansine, lorwotuzumab mertansine). W ostatnich latach obserwuje się wzrost liczby badań klinicznych z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych koniuagowanych z chemioterapeutykami i rezultaty tych badań są coraz bardziej zadowalające. Doświadczenia naukowców wykazują również, że immunokoniuagaty nie są bardziej immunogenne niż monoterapia przeciwciałami monoklonalnymi, co stwarza duże nadzieje na skuteczność takiej terapii.

Immunokoniuagaty są bez wątpienia obiecującą alternatywą dla nowoczesnej terapii przeciwnowotworowej, pozwalając na celowane podawanie chemioterapeutyków wprost do komórek nowotworowych. Mają jednak pewne ograniczenia: niezwykle ważną rolę w przypadku immunokoniuagatów odgrywa ich wielkość, która musi być dobrana w taki sposób, by umożliwiać wnikanie leku do guza, jednocześnie uniemożliwiając zbyt szybką ich eliminację przez nerki. Ponadto do przeciwciała przyłączyć można tylko niewielką, ściśle określoną liczbę cząsteczek chemioterapeutyku, co jest dość dużym ograniczeniem, zwłaszcza w przypadku leków wykazujących niski lub średni potencjał terapeutyczny. Jak wspomniano we wcześniej podanym przykładzie, w pierwszych immunokoniuagatach próbowano zastosować metotreksat [16], mitomycynę C, alkaloidy barwinka [66] czy winblastynę [3], które w połączeniu z przeciwciałem nie wykazywały jednak znaczącej poprawy aktywności *in vivo*. Otrzymane rezultaty wynikały ze średniej lub też niskiej aktywności przeciwnowotworowej zastosowanych chemioterapeutyków, co w połączeniu z niewielką liczbą przyłączonych do przeciwciała cząsteczek ograniczało efekt cytotoksyczny. W związku z tym w dalszych pracach skupiono się na związkach o wyjątkowo silnych właściwościach przeciwnowotworowych, takich jak np. kalicheamycyna [26]. Ich zastosowanie stworzyło nową przeszkodę – zbyt duże cząsteczki wchodzące w skład immunokoniuagatu wpływać mogą na jego farmakologiczne i immunologiczne właściwości i na los takiego

Tabela 1. Przykłady wybranych immunokoniugatów znajdujących się na różnych etapach badań klinicznych lub zatwierdzone przez Amerykańską Agencję ds. Leków i Żywności (FDA) [5, 31, 39, 42, 43, 46, 56, 57, 61, 68, 70]

Nazwa immunokoniugatu	Przeciwciało monoklonalne (mAbs)	Cel terapii	Zastosowanie w terapii	Faza badań klinicznych
Gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg®)	hP67.6 Humanizowane IgG4	CD33	Białaczka	Zatwierdzone przez FDA w 2000 r. (wycofane, ponownie dopuszczone w 2017 r.)
Brentuximab vedotin (Adcetris®)	Brentuksimab Chimeryczne IgG1	CD30	Chłoniak Hodgkina	Zatwierdzone przez FDA w 2011 r. (dopuszczone warunkowo)
Trastuzumab emtansine (T-DM1, Kadcyla®)	Trastuzumab Humanizowane IgG1	HER2 (ErbB2)	Rak piersi (HER2-dodatni)	Zatwierdzone przez FDA w 2013 r.
Inotuzumab ozogamicin (CMC-544, Besponsa®)	G5/44 Humanizowane IgG4	CD22	Chłoniak	Zatwierdzone przez FDA w 2017 r.
Polatuzumab vedotin-piiq (Polivy®)	Humanizowane	CD79B	Chłoniak rozlany z dużych komórek B	Zatwierdzone przez FDA w 2019 r.
Glembatumumab vedotin	Glembatumumab Ludzkie IgG1	Glikoproteina NMB	Rak piersi	Faza II
Lorvotuzumab mertansine	Lorvotuzumab Humanizowane IgG1	CD56	Nowotwory lite i CD56-pozytywne	Faza I/II
SAR3419	huB4 Humanizowane IgG1	CD19	Nowotwory limfocytów B	Faza II
PSMA ADC	Anty-PSMA Ludzkie IgG1	PSMA	Rak prostaty	Faza I

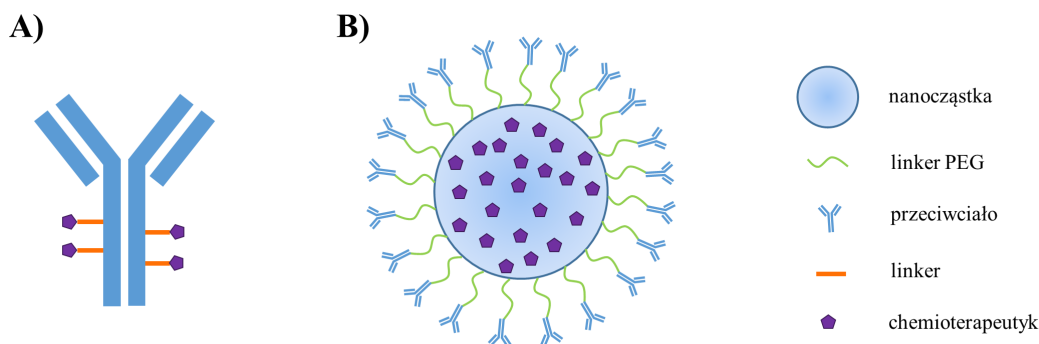
połączenia w warunkach *in vivo* [30]. Z czasem okazało się także, że część połączeń chemioterapeutyków z przeciwciałami charakteryzuje się zwiększoną toksycznością w porównaniu do stosowanych oddzielnie składowych immunokoniugatu. Doskonałym przykładem jest Herceptin®, którego umiarkowana toksyczność kardiologiczna znacząco wzrasta po połączeniu z pochodnymi antracyklin, takimi jak np. doksorubicyna [58].

IMMUNONANOCZĄSTKI

Z pomocą w rozwiązaniu problemów wynikających ze stosowania immunokoniugatów przychodzi nanomedycyna, będąca ważną częścią medycyny molekularnej, z systemem dostarczania chemioterapeutyków opartym na nanobiotechnologii. System wykorzystuje nanocząstki w połączeniu z różnego rodzaju ligandami mającymi zdolność selektywnego rozpoznawania i wiązania się z cząsteczkami na powierzchni komórek docelowych. Wśród nich wyróżnić można peptydy, glikoproteiny, węglowodany, polimery i przeciwciała. Najlepiej przebadanymi pozostają jednak przeciwciała

monoklonalne [35, 72]. Immunonanocząstką nazywane jest przeciwciało monoklonalne związane z nanocząstką. Jest to stosunkowo nowe podejście do chemioterapii bazujące na potencjale tkwiącym zarówno w immunokoniugatach, jak i nanotechnologii. Z pierwszym łączy system celowanego dostarczania cytostatyku do komórek nowotworowych, z drugim – wykorzystanie nanocząstek jako nośnika, w którym zamknięto substancję przeciwnowotworową [18, 32].

Nanotechnologia dostarcza wiele różnych form nanocząstek, które mogą potencjalnie być nośnikami chemioterapeutyków. Ich wybór zależy jednak przede wszystkim od właściwości chemicznych i rozpuszczalności leku, które decydują o tym, ile jego cząstek zostanie w nanocząstce uwięzionych. Na przykład polimerowe nanocząstki złożone z polimerów polilaktydowych stosowane są najczęściej do zamykania hydrofobowych cząsteczek leków. Polimery takie są biokompatybilne i mają przewidywalny metabolizm, a w procesie ich rozkładu nie powstają toksyczne produkty [19]. Natomiast liposomy, w przeciwieństwie do nich, mogą być wykorzystywane



Ryc. 3. Porównanie immunokoniugatu (A) i immunonanocząstki (B) (przedstawione w różnej skali)

zarówno do zamykania hydrofobowych, jak i hydrofilowych cząsteczek odpowiednio w dwuwarstwie lipidowej lub wodnym rdzeniu liposomu [63].

Immunonanocząstki wykazują obiecujący potencjał w badaniach przedklinicznych. Przede wszystkim eliminują problem potencjalnej inaktywacji chemioterapeutyku w ustroju, czy też konieczności zajścia lizosomalnej degradacji immunokoniugatu w celu uwolnienia związanego leku [4, 18]. Ponadto nanocząstki przez minimalizowanie wpływu różnic w farmakokinetyce leków mogą zmniejszać toksyczność dwóch różnych chemioterapeutyków w razie ich jednoczesnego zastosowania w terapii. Zapewniają również dotarcie obu cząsteczek w odpowiednim stosunku do komórek docelowych, co jest niezbędne do ich synergistycznego działania [59]. Niezwykle ważnym czynnikiem w tworzeniu połączeń między nanocząstkami a przeciwciałami jest stosunek leku do przeciwciała. W immunokoniugatach celem zachowania optymalnej równowagi między cytotoksycznością a profilem farmakokinetycznym stosunek ten wynosić powinien średnio 4:1. Immunonanocząstki umożliwiają natomiast zwiększenie tej liczby nawet powyżej 100, umożliwiając w ten sposób dostarczenie do komórek nowotworowych znacznie więcej chemioterapeutyku. Oznacza to, że w terapii immunonanocząstkami stosować można leki o niskiej sile działania, które w przypadku immunokoniugatów okazywały się nieskuteczne [75].

Projektując immunonanocząstkę, należy brać pod uwagę kilka czynników. Jednym z nich jest sama nanocząstka, która miałaby wchodzić w skład takiego połączenia. Musi być biologicznie obojętna, wykazywać stabilność w określonych warunkach fizjologicznych, mieć możliwość swobodnego poruszania się po ustroju, zapewniać bezpieczne zamknięcie chemioterapeutyku oraz zawierać powierzchnię umożliwiającą przyłączenie do niej przeciwciał monoklonalnych. Ważny jest również sam mechanizm, dzięki któremu nanocząstka będzie uwalniała przenoszony lek, który musi wykazywać zgodność z pozostałymi właściwościami takiej immunocząstki [55]. Ostatnie dwadzieścia lat to niezwykle owocny okres dla opracowywania i rozwoju nowych

form nanocząstek, które mogą być wykorzystywane w immunonanoterapii. Można je podzielić na nanocząstki pochodzenia nieorganicznego i organicznego, a do najczęściej stosowanych należą:

- Nanocząstki nieorganiczne

Nanocząstki złota. Pierwsze zastosowanie nanocząstek złota w medycynie nastąpiło już w latach 30 XX w., kiedy zaczęto je wykorzystywać w reumatoidalnym zapaleniu stawów. Od tamtej pory nanocząstki złota stały się niezwykle ważnym elementem wielu terapii, w tym również chemioterapii. Zainteresowanie nanocząstkami złota wynika z ich właściwości fizykochemicznych i zależnych od wielkości właściwości optycznych. Na przykład ich zdolność do wydzielania ciepła pod wpływem absorpcji światła w bliskiej podczerwieni znalazła zastosowanie w terapii fototermicznej, a właściwości prowadząca do poprawy procesów optycznych, takich jak absorpcja i fluorescencja, pozwoliła na ich szerokie zastosowanie w dziedzinie biosensorów i środków obrazujących. Badania nad tym rodzajem nanocząstek umożliwiły opracowanie różnych składów i kształtów, takich jak: nanosfery, nanomuszle [12] i nanopręty złota [74]. Pomimo różnorodności, w której występować mogą nanocząstki złota, wszystkie wykazują właściwości fizykochemiczne złota atomowego, będąc stabilnymi w zmieniającym się środowisku ustroju [32]. W literaturze można znaleźć doniesienia przemawiające zarówno za bezpieczeństwem stosowania takich nanocząstek [22], jak i wykazujących ich wpływ na obniżenie przeżywalności komórek prawidłowych [45, 71]. Połączenia chemioterapeutyków z nanocząstkami złota zostały jednak dopuszczone do badań klinicznych. W badaniu I fazy stosowano nanocząstki złota w połączeniu z czynnikiem martwicy nowotworu TNF- α . U otrzymujących je pacjentów zaobserwowano brak toksyczności ograniczającej zakres stosowanych dawek, jak również brak immunogenności [48]. Problemy ze stosowaniem nanocząstek złota dotyczą przede wszystkim ich struktury, która w dużym stopniu ogranicza możliwość zamykania w nich różnych cząstek oraz ich słabej biodegradowalności i często wątpliwej biogodności [53].

Kropki kwantowe. Są to niewielkie cząstki półprzewodnikowe wielkości do kilku nanometrów, o właściwościach elektrycznych i zależnych od ich wielkości właściwościach optycznych. Najczęściej są zbudowane z rdzenia składającego się z selenku kadmu otoczonego koroną z selenku cynku, przy czym możliwe są również inne połączenia. Istnieje kilka sposobów wytwarzania kropek kwantowych, do których zaliczyć można metody obejmujące syntezę koloidalną, samoorganizację i bramkowanie elektryczne. Kropki kwantowe wykorzystywane są przede wszystkim w bioobrazowaniu ze względu na swoje właściwości fluorescencyjne, są zdolne do emisji światła o dużej intensywności różnej barwy pod wpływem wzbudzenia światłem UV, co jest wynikiem ograniczenia kwantowego. Kolor emitowanego światła można modyfikować przez zmiany w średnicy, czy składzie kropek kwantowych. Mimo dość dużych promieni hydrodynamicznych (10–15 nm) bioskoniugowane sondy kropek kwantowych nie wykazują problemów wynikających z kinetyki wiązań czy też ze względów sferycznych. Kropki kwantowe w swym mezoskopowym zakresie wielkości mają znacznie więcej miejsc wiązania na swej powierzchni i również pozwalają na łączenie ich z różnymi środkami diagnostycznymi (np. z radioizotopami) czy terapeutycznymi (np. w terapii przeciwnowotworowej). Dołączenie do nich takich cząstek nie zmienia ich właściwości, co pozwala zachować stabilność takich układów i stosować je np. w przypadku obrazowania nowotworów stercza [20, 55].

Nanorurki węglowe. Są cylindrycznymi, pustymi w środku strukturami złożonymi z jednoatomowej warstwy węglowej, w której poszczególne atomy są ułożone między sobą heksagonalnie. Ich powierzchnię pokrywać można różnego typu cząstkami organicznymi, jak np. przeciwciała, co nadaje im duży potencjał w przypadku zastosowań biomedycznych. Mogą być łączone również z polimerami albo biocząsteczkami, wykazując wówczas różnego rodzaju aktywność i zastosowanie, do których zaliczyć można potencjalne wykorzystanie jako rusztowania do wzrostu kości czy nośniki leków (dzięki łatwemu przenikaniu przez błony komórkowe). Mają unikalne właściwości optyczne, takie jak zdolność do absorpcji czy fotoluminescencji oraz właściwości elektryczne, które pozwalają na ich wykorzystanie jako przewodniki lub półprzewodniki. Ponadto ich synteza jest niezwykle tania, co czyni z nich doskonałych kandydatów na czynniki obrazujące i diagnostyczne. Wykorzystywane są m.in. w terapii przeciwbakteryjnej i fototerapii przeciwnowotworowej, gdzie pełnią rolę fotouczulaczy, niszcząc w ten sposób komórki docelowe. Zastosowanie *in vivo* nanorurek węglowych wciąż jeszcze jest ograniczone ze względu na ich słabą biodegradowalność, działanie uszkadzające płuca oraz narządową akumulację [28, 50, 62].

- Nanocząstki organiczne

Liposomy. Są sferycznymi strukturami mającymi odwzorowywać naturalną dwuwarstwę lipidową. Pierwsze

próby wykorzystania liposomów jako nośników leków podjęto we wczesnych latach 60 XX w. Zakończyły się jednak niepowodzeniem ze względu na małą stabilność otrzymywanych preparatów, ich immunogenność oraz szybką eliminację z krążenia przez układ siateczkowo-śródbłonkowy. W związku z tym podjęto próby mające na celu zwiększenie czasu przebywania liposomów w układzie krążenia przez dołączenie do ich powierzchni łańcuchów glikolu polietylenowego (PEG). Ponadto opracowano metody bardziej skutecznego zamykania chemioterapeutyków we wnętrzu podwójnej błony liposomalnej, dodano fragmenty ludzkich lub też humanizowanych przeciwciał oraz opracowano metody ich zaawansowanego sprzężania. Od tego czasu na rynek wprowadzono wiele preparatów z powodzeniem stosowanych w terapii nowotworów. Zapewniają dłuższy okres półtrwania leku w ustroju, bardziej kontrolowany profil uwalniania, jak również ograniczają gwałtowne wzrosty stężenia chemioterapeutyków w surowicy. Wykazują ponadto doskonałą biokompatybilność oraz charakteryzują się łatwością w syntezie. Zaobserwowano, że są zdolne do kumulowania się w tkance nowotworowej. Głównym problemem przy opracowywaniu nowych form immunoliposomów jest ich duża wrażliwość na zmiany strukturalne oraz ich swoistość zależna od ładunku [37, 53]. Najlepszym przykładem wymienionych właściwości liposomów jest ich połączenie z doksorubicyną, która zastosowana samodzielnie działa kardiotoxycznie. Zmniejsza się to jednak drastycznie po jej podaniu w postaci zamkniętej w liposomalnych nanocząstkach. W terapii z powodzeniem stosowane są już takie połączenia (Doxil[®], Myocet[®]) [2, 54].

Dendrymery. Obejmują wiele rozgałęzionych kompleksów polimerowych złożonych z rdzenia, do którego następnie są dobudowywane kolejne warstwy polimerów tworzące drzewiasty makrokompleks. Rozgałęziające się od rdzenia łańcuchy są zazwyczaj zbudowane z polimerów syntetycznych, przy czym w literaturze znaleźć można przykłady wykorzystania w syntezie dendrymerów naturalnych polimerów, takich jak cukry czy aminokwasy. Synteza dendrymerów prowadzona pod dokładną kontrolą pozwala na niezwykle precyzyjne sprawdzanie ich rozmiaru, kształtu, powierzchni i przestrzeni wewnętrznej, co jest niezwykle ważne w przypadku zastosowań medycznych [69]. Powierzchnia dendrymeru może zostać zaprojektowana w taki sposób, by zmniejszyć lub też zwiększyć jego zdolność do przechodzenia przez błony komórkowe, warstwy nabłonkowe czy ściany naczyń krwionośnych. Ponadto mają doskonałą rozpuszczalność i nie wykazują immunogenności [64]. Odpowiednio zaprojektowane wnętrza dendrymeru pozwala na zamknięcie w nim drobnocząsteczkowych chemioterapeutyków, metali czy grup sygnałowych, co umożliwia ich wykorzystanie jako nośników w różnych celach diagnostycznych i terapeutycznych dla takich cząstek jak DNA, RNA, kontrastów do bioobrazowania, czy chemioterapeutyków. Zamknięcie ich we wnętrzu dendrymeru zmniejsza ich toksycz-

ność, a ponadto umożliwia kontrolowane uwalnianie przenoszonej cząsteczki. W zwalczaniu nowotworów i innych chorób, dendrymery mogą być wykorzystywane na dwa główne sposoby:

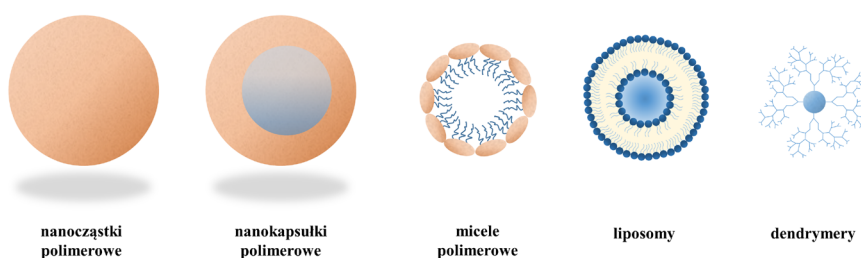
- bierną terapię celowaną, opartą na zwiększonej przepuszczalności przez pierwotne naczynia guza lub ukierunkowanie na określone narządy oraz
- aktywną terapię celowaną ukierunkowaną na konkretny receptor w obrębie guza lub narządu wykazującą swoiste dla danego receptora grupy docelowe [49, 69].

Micelle polimerowe. Są złożone z agregatów amfifilowych polimerów, które tworzą hydrofobowy rdzeń otoczony hydrofilowym płaszczem łańcuchów polimerowych skierowanych w stronę środowiska wodnego. Ich niewielki rozmiar i hydrofilowość umożliwiają im unikanie układu fagocytarnego, co znacząco zwiększa ich stężenie we krwi. Obecnie największą popularnością przy syntezie miceli polimerowych cieszą się heterobifunkcyjne kopolimery złożone z hydrofilowego bloku PEG, poli(winylopirolidonu) oraz hydrofobowego poli(L-laktydu) lub poli(L-lizyny) tworzących rdzeń miceli. Podobnie do nanocząstek liposomalnych, micelle polimerowe charakteryzują się doskonałą biokompatybilnością. Hydrofilowy charakter warstwy zewnętrznej i ich rozmiar (na poziomie <100 nm) chroni je przed wychwytem przez układ siateczkowo-śródbłonkowy i ułatwia pozostanie niezauważonymi w układzie krwionośnym oraz pozwala na skuteczne i bezpieczne zamknięcie w ich wnętrzu leków o dużym stopniu hydrofilowości

ści w celu ich ochrony przed środowiskiem organizmu. Mają jednak trudne do kontroli profile uwalniania przenoszonych cząsteczek i, analogicznie do liposomów, są wrażliwe na zmiany strukturalne. Wprowadzenie na powierzchni wykrywalnych ugrupowań, czy zastosowanie do ich syntezy polimerów termo- lub też pH-wrażliwych pozwoliło na zwiększenie ich celowanego dostarczania do określonych miejsc w organizmie. Ponadto, są doniesienia o zastosowaniu miceli polimerowych jako nośników genów, co prowadziło do ich zwiększonej skuteczności w proponowanym schemacie terapii [17, 44]. W chemioterapii stosuje się nanocząstki złożone z miceli polimerowych, w których zamknięto takie leki jak dokсорubicyna [15] i kamptotecyna [34] związanych z hydrofobowym rdzeniem.

Nanocząstki polimerowe. Do grupy nanocząstek polimerowych zaliczyć można zarówno nanosfery, jak i nanokapsułki. Pierwsze są najprostszymi nanocząstkami złożonymi ze zwykłej warstwy polimerowej, drugie natomiast zawierają dodatkowo rdzeń hydrofilowy o większej zdolności wiązania hydrofilowych cząstek, takich jak DNA czy RNA. To, które nanocząstki polimerowe należy zastosować zależy przede wszystkim od rozpuszczalności substancji czynnej, którą chcemy w nich zamknąć. Trudno rozpuszczalne w wodzie chemioterapeutyki lepiej będą się łączyć z nanosferami, w przeciwieństwie do leków, które wykazują dobrą rozpuszczalność w środowisku wodnym – te łatwiej będą tworzyć połączenia z nanokapsułkami. Nanocząstki polimerowe charakteryzują się jednostajnym uwalnianiem zamkniętych w nich cząstek w klinicznie istotnym czasie. Ich główną wadą jest trudność

Nanocząstki organiczne



Nanocząstki nieorganiczne



Ryc. 4. Nanocząstki najczęściej stosowane w immunonanoterapii (przedstawione w różnej skali)

w oczyszczaniu i problemy z przechowywaniem, co ogranicza możliwość ich wykorzystania na skalę przemysłową. W syntezie nanocząstek polimerowych wykorzystywano takie polimery jak poli(akrylamidy), poli(estry), poli(alkilocyanoakrylany), poli(laktydy), poli(kwasy glikolowe), poli(kwasy mlekowo-glikolowe) – PLGA, chitozan i alginy. Najczęściej stosowany jest jednak PLGA ze względu na swoją potwierdzoną biokompatybilność [18, 55].

Równie ważnym krokiem co wybór nośnika – dla chemioterapeutyku w opracowywaniu immunonancząstek – jest dobór swoistego przeciwciała, które skierowane byłoby przeciwko konkretnemu celowi molekularnemu w docelowych komórkach nowotworowych. Większość prowadzonych badań jako cel molekularny wybiera markery nowotworowe wykazujące nadekspresję w określonych typach guzów. Najczęściej wykorzystywane w terapii nowotworów markery przedstawiono w tabeli 2.

EGFR należy do rodziny ludzkich receptorów nabłonkowych. Aktywacja EGFR różnymi ligandami pobudza proliferację, migrację i angiogenezę. Jego nadekspresję zaobserwowano w licznych nowotworach, w tym nowotworach piersi, przełyku i płuca, co bezpośrednio wiąże się z obniżonym rokowaniem. EGFR jest jednym z celów molekularnych w immunoterapii, w tym także dla immunonancząstek. Skuteczność połączenia przeciwciała przeciwko EGFR z chemioterapeutykiem wykazano w licznych badaniach *in vitro*. Zastosowanie immunonancząstek złożonych z polimeru kwasu mlekowego i glikolowego (PLGA) połączonych z przeciwciałem przeciwko EGFR, w którym zamknięto cząsteczki rapamycyny, znacznie zwiększało cytotoksyczność związku w komórkach raka piersi MCF-7 w porównaniu do podawanej niezwiązanej rapamycyny [1]. W badaniach *in vivo* na mysim modelu niedrobnokomórkowego raka płuc z zastosowaniem immunonancząstek zbudowanych z polimeru kwasu mlekowego i glikolowego (PLGA) i cetuksimabu, zawierających docetaksel, wykazano zwiększony efekt cytotoksyczny z jednoczesnym podniesieniem komórkowej absorpcji leku [52].

HER2/neu jest receptorem kinazy tyrozynowej należącym do tej samej rodziny receptorów co EGFR. Jest jednym z ważniejszych celów molekularnych we współ-

czesnej onkologii wykazującym nadekspresję w dużej liczbie nowotworów piersi. Jego obecność wiąże się ze zmniejszoną przeżywalnością i zwiększonym ryzykiem nawrotu choroby. Ponadto nadekspresję HER2/neu zaobserwowano również w nowotworach żołądka i jajników. Aktywność immunonancząstek zawierających przeciwciała skierowane przeciwko HER2/neu potwierdzono w warunkach zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Zastosowanie opłaszczonych trastuzumabem (przeciwciałem anti-HER2/neu) nanocząstek w nowotworze żołądka zwiększało przeciwnowotworowe właściwości paklitakselu *in vitro*, a także *in vivo* [73]. W innym badaniu z wykorzystaniem podobnego połączenia wykazano zwiększenie efektu cytotoksycznego w mysich ksenograftach raka jajnika SKOV-3 [11]. Podobne wyniki w warunkach *in vitro* otrzymano w komórkach raka piersi SK-BR-3, stosując immunonancząstki chitozanu sprzężonego z bursztynianem D- α -tokoferolu i glikolem polietylenowym 1000 oraz pokrytych trastuzumabem. Natomiast ich zastosowanie *in vivo* potwierdziło zwiększone bezpieczeństwo stosowania niż w przypadku niezwiązanego docetakselu [41].

VEGFR są receptorami kinazy tyrozynowej, które podczas aktywacji promują angio- i waskulogenezę. Ich nadekspresję obserwuje się przede wszystkim w nowotworach angiogennych [27]. W badaniach *ex vivo* nad przewlekłą białaczką limfatyczną stosowano sferyczne nanocząstki złota (wielkości ~4-5 nm) w połączeniu z mysim przeciwciałem IgG2a anti-VEGFR (2C3). Otrzymane wyniki wykazały, że połączenie takie przyczynia się do nasilenia apoptozy w porównaniu do monoterapii [51]. Ponadto skupiono się także nad wykorzystaniem immunonancząstek zawierających anti-VEGFR w radioterapii. Badania prowadzono na ksenoprzeszczepach raka wątroby HepG2, stosując magnetyczne nanocząstki dekstranowe zawierające radioizotop I-131. Ich zastosowanie w połączeniu z polem elektromagnetycznym wykazało, że umożliwiają kontrolę nad biodystrybucją radioizotopu. Wątrobę pacjentów po podaniu immunonancząstek poddawano działaniu pola elektromagnetycznego, dzięki czemu immunonancząstki umiejscowiły się przede wszystkim w zmienionej nowotworowo wątrobie. Stworzyło to nadzieje na wykorzystanie takich i podobnych połączeń nie tylko w tradycyjnej chemioterapii, ale również w radioterapii [10].

Tabela 2. Najczęstsze antygeny wykorzystywane jako cele molekularne immunonancząstek [18]

Antygen	Funkcja antygeny	Nowotwory wykazujące nadekspresję
HER2/neu	receptor EGF	nowotwory piersi, jelita grubego, żołądka, jajników
EGFR	receptor EGF	glejak, nowotwory przełyku, płuc, wątroby, głowy, szyi
VEGF	receptor VEGF	chłoniak piersi, nowotwór jelita grubego
PSMA	antygen błonowy swoisty dla prostaty	nowotwór prostaty
Tfr	receptor transferyny	glejak, nowotwory trzustki, jelita grubego, płuc, piersi

Zastosowanie immunonanozwiązków w medycynie molekularnej wydaje się niezwykle obiecującą alternatywą dla obecnie stosowanych immunokoniugatów czy terapii skojarzonej. Dają nadzieję na znalezienie skutecznej terapii przeciwko wielu nowotworom dzięki właściwościom umożliwiającym lepszą kontrolę nad procesem uwalniania leku, jego celowanym podawaniu, czy w wielu przypadkach, zmniejszoną toksycznością. Pręźnie rozwijające się prace w dziedzinie medycyny molekularnej skupiające się na opracowywaniu kolejnych przeciwciał, chemioterapeutyków czy biomarkerów w przyszłości pozwolą na tworzenie

nowocześniejszych i bardziej skutecznych połączeń, jednocześnie zmniejszając wiele działań niepożądanych. Obiecujące wydaje się również wykorzystanie immunonanozwiązków do pobudzania odpowiedzi immunologicznej we wciąż rozwijającej się immunoterapii przeciwnowotworowej. Przed zastosowaniem immunonanozwiązków w praktyce klinicznej należy jednak odpowiedzieć na pytania: jaka będzie ich biodystrybucja w ustroju, retencja, metabolizm i długoterminowa toksyczność. Mimo to wydaje się, że w przyszłości ich zastosowanie w terapii może być kolejnym krokiem milowym w walce z nowotworami [18, 32].

PIŚMIENNICTWO

- [1] Acharya S., Dilnawaz F., Sahoo S.K.: Targeted epidermal growth factor receptor nanoparticle bioconjugates for breast cancer therapy. *Biomaterials*, 2009; 30: 5737–5750
- [2] Andreopoulou E., Gaiotti D., Kim E., Downey A., Mirchandani D., Hamilton A., Jacobs A., Curtin J., Muggia F.: Pegylated liposomal doxorubicin HCL (PLD; Caelyx/Doxil): Experience with long-term maintenance in responding patients with recurrent epithelial ovarian cancer. *Ann. Oncol.*, 2007; 18: 716–721
- [3] Apeltgren L.D., Zimmerman D.L., Briggs S.L., Bumol T.F.: Antitumor activity of the monoclonal antibody-Vinca alkaloid immunoconjugate LY203725 (KS1/4-4-desacetylvinblastine-3-carboxhydrazide) in a nude mouse model of human ovarian cancer. *Cancer Res.*, 1990; 50: 3540–3544
- [4] Ashton S., Song Y.H., Nolan J., Cadogan E., Murray J., Odedra R., Foster J., Hall P.A., Low S., Taylor P., Ellston R., Polanska U.M., Wilson J., Howes C., Smith A., et al.: Aurora kinase inhibitor nanoparticles target tumors with favorable therapeutic index in vivo. *Sci. Transl. Med.*, 2016; 8: 325ra17
- [5] Blanc V., Bousseau A., Caron A., Carrez C., Lutz R.J., Lambert J.M.: SAR3419: An anti-CD19-maytansinoid immunoconjugate for the treatment of B-cell malignancies. *Clin. Cancer Res.*, 2011; 17: 6448–6458
- [6] Boige V., Malka D., Bourredjem A., Dromain C., Baey C., Jacques N., Pignon J.P., Vimond N., Bouvet-Fortea N., De Baere T., Ducreux M., Farace F.: Efficacy, safety, and biomarkers of single-agent bevacizumab therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Oncologist*, 2012; 17: 1063–1072
- [7] Chari R.V.: Targeted cancer therapy: Conferring specificity to cytotoxic drugs. *Acc. Chem. Res.*, 2008; 41: 98–107
- [8] Chari R.V.: Targeted delivery of chemotherapeutics: Tumor-activated prodrug therapy. *Adv. Drug Delivery Rev.*, 1998; 31: 89–104
- [9] Chari R.V., Jackel K.A., Bourret L.A., Derr S.M., Tadayoni B.M., Mattocks K.M., Shah S.A., Liu C., Blättler W.A., Goldmacher V.S.: Enhancement of the selectivity and antitumor efficacy of a CC-1065 analog through immunoconjugate formation. *Cancer Res.*, 1995; 55: 4079–4084
- [10] Chen J., Wu H., Han D., Xie C.: Using anti-VEGF McAb and magnetic nanoparticles as double-targeting vector for the radioimmunotherapy of liver cancer. *Cancer Lett.*, 2006; 231: 169–175
- [11] Cirstoiu-Hapca A., Buchegger F., Lange N., Bossy L., Gurny R., Delie F.: Benefit of anti-HER2-coated paclitaxel-loaded immunonanoconjugates in the treatment of disseminated ovarian cancer: Therapeutic efficacy and biodistribution in mice. *J. Control. Release*, 2010; 144: 324–331
- [12] Conti P.S., White C., Pieslor P., Molina A., Aussie J., Foster P.: The role of imaging with ¹¹¹In-ibritumomab tiuxetan in the ibritumomab tiuxetan (Zevalin) regimen: results from a Zevalin Imaging Registry. *J. Nucl. Med.*, 2005; 46: 1812–1818
- [13] Duchnowska R.: Leczenie celowane – nowe nadzieje w leczeniu raka piersi. *Onkol. Prakt. Klin.*, 2007; 3: 128–134
- [14] Ducry L., Stump B.: Antibody-drug conjugates: Linking cytotoxic payloads to monoclonal antibodies. *Bioconjugate Chem.*, 2010; 21: 5–13
- [15] Elbayoumi T.A., Pabba S., Roby A., Torchilin V.P.: Antinucleosome antibody-modified liposomes and lipid-core micelles for tumor-targeted delivery of therapeutic and diagnostic agents. *J. Liposome Res.*, 2007; 17: 1–14
- [16] Endo N., Takeda Y., Kishida K., Kato Y., Saito M., Umemoto N., Hara T.: Target-selective cytotoxicity of methotrexate conjugated with monoclonal anti-MM46 antibody. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1987; 25: 1–6
- [17] Erickson H.K., Park P.U., Widdison W.C., Kovtun Y.V., Garrett L.M., Hoffman K., Lutz R.J., Goldmacher V.S., Blättler W.A.: Antibody-maytansinoid conjugates are activated in targeted cancer cells by lysosomal degradation and linker-dependent intracellular processing. *Cancer Res.*, 2006; 66: 4426–4433
- [18] Fay F., Scott C.J.: Antibody-targeted nanoparticles for cancer therapy. *Immunotherapy*, 2011; 3: 381–394
- [19] Gadomska A.A., Warych I., Ruśkowski P., Synoradzki L.: Otrzymanie nanosfer polilaktydowych. *Przem. Chem.*, 2014; 93: 1311–1314
- [20] Gao X., Cui Y., Levenson R.M., Chung L.W., Nie S.: In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat. Biotechnol.*, 2004; 22: 969–976
- [21] Gerber D.E.: Targeted therapies: a new generation of cancer treatments. *Am. Fam. Physician*, 2008; 77: 311–319
- [22] Geso M.: Gold nanoparticles: a new X-ray contrast agent. *Br. J. Radiol.*, 2007; 80: 64–65
- [23] Gornowicz A., Bielawska A., Popławska B., Bielawski K.: Mucyna-1 (MUC1) jako obiecujący cel molekularny w terapii przeciwnowotworowej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2018; 72: 53–64
- [24] Gornowicz A., Bielawska A., Szymanowski W., Gabryel-Porowska H., Czarnomys R., Bielawski K.: Mechanism of anticancer action of novel berenil complex of platinum(II) combined with anti-MUC1 in MCF-7 breast cancer cells. *Oncol. Lett.*, 2018; 15: 2340–2348
- [25] Gornowicz A., Szymanowski W., Bielawska A., Szymanowska A., Czarnomys R., Kałuża Z., Bielawski K.: Monoclonal anti-MUC1 antibody with novel octahydropyrazino[2,1-a:5,4-a']diisoquinoline derivative as a potential multi-targeted strategy in MCF-7 breast cancer cells. *Oncol. Rep.*, 2019; 42: 1391–1403
- [26] Hamann P.R., Hinman L.M., Hollander I., Beyer C.F., Lindh D., Holcomb R., Hallett W., Tsou H.R., Upeslacijs J., Shochat D., Mountain A., Flowers D.A., Bernstein I.: Gemtuzumab ozogamicin, a potent and selective anti-CD33 antibody-calicheamicin conjugate for treatment of acute myeloid leukemia. *Bioconjugate Chem.*, 2002; 13: 47–58

- [27] Hendrix M.J., Seftor E.A., Kirschmann D.A., Quaranta V., Seftor R.E.: Remodeling of the microenvironment by aggressive melanoma tumor cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2003; 995: 151–161
- [28] Huang N., Wang H., Zhao J., Lui H., Korbelik M., Zeng H.: Single-wall carbon nanotubes assisted photothermal cancer therapy: Animal study with a murine model of squamous cell carcinoma. *Lasers Surg. Med.*, 2010; 42: 638–648
- [29] Issell B.F., Crooke S.T.: Maytansine. *Cancer Treat. Rev.*, 1978; 5: 199–207
- [30] Jaracz S., Chen J., Kuznetsova L.V., Ojima I.: Recent advances in tumor-targeting anticancer drug conjugates. *Bioorg. Med. Chem.*, 2005; 13: 5043–5054
- [31] Jensen M., Berthold F.: Targeting the neural cell adhesion molecule in cancer. *Cancer Lett.*, 2007; 258: 9–21
- [32] Johnston M.C., Scott C.J.: Antibody conjugated nanoparticles as a novel form of antibody drug conjugate chemotherapy. *Drug Discov. Today Technol.*, 2018; 30: 63–69
- [33] Kaul S., Igwemezie L.N., Stewart D.J., Fields S.Z., Kosty M., Levithan N., Bukowski R., Gandara D., Goss G., O'Dwyer P.: Pharmacokinetics and bioequivalence of etoposide following intravenous administration of etoposide phosphate and etoposide in patients with solid tumors. *J. Clin. Oncol.*, 1995; 13: 2835–2841
- [34] Kawano K., Watanabe M., Yamamoto T., Yokoyama M., Opanasopit P., Okano T., Maitani Y.: Enhanced antitumor effect of camptothecin loaded in long-circulating polymeric micelles. *J. Control. Release*, 2006; 112: 329–332
- [35] Kocbek P., Obermajer N., Cegnar M., Kos J., Kristl J.: Targeting cancer cells using PLGA nanoparticles surface modified with monoclonal antibody. *J. Control. Release*, 2007; 120: 18–26
- [36] Köhler G., Milstein C.: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, 1975; 256: 495–497
- [37] Kontermann R.E.: Immunoliposomes for cancer therapy. *Curr. Opin. Mol. Ther.*, 2006; 8: 39–45
- [38] Kovtun Y.V., Audette C.A., Ye Y., Xie H., Ruberti M.F., Phinney S.J., Leece B.A., Chittenden T., Blättler W.A., Goldmacher V.S.: Antibody-drug conjugates designed to eradicate tumors with homogeneous and heterogeneous expression of the target antigen. *Cancer Res.*, 2006; 66: 3214–3221
- [39] Krop I.E., Beeram M., Modi S., Jones S.F., Holden S.N., Yu W., Girish S., Tibbitts J., Yi J.H., Sliwkowski M.X., Jacobson F., Lutzker S.G., Burris H.A.: Phase I study of trastuzumab-DM1, an HER2 antibody-drug conjugate, given every 3 weeks to patients with HER2-positive metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2010; 28: 2698–2704
- [40] Kubczak M., Rogalińska M.: Ewolucja przeciwciał monoklonalnych w leczeniu chorób nowotworowych. *Post. Biochem.*, 2016; 62: 518–525
- [41] Kumar Mehata A., Bharti S., Singh P., Viswanadh M.K., Kumari L., Agrawal P., Singh S., Koch B., Muthu M.S.: Trastuzumab decorated TPGS-g-chitosan nanoparticles for targeted breast cancer therapy. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, 2019; 173: 366–377
- [42] Lambert J.M.: Drug-conjugated antibodies for the treatment of cancer. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 2013; 76: 248–262
- [43] Lanier L.L., Chang C., Azuma M., Ruitenber J.J., Hemperly J.J., Phillips J.H.: Molecular and functional analysis of human natural killer cell-associated neural cell adhesion molecule (N-CAM/CD56). *J. Immunol.*, 1991; 146: 4421–4426
- [44] Lavasanifar A., Samuel J., Kwon G.S.: Poly(ethylene oxide)-block-poly(L-amino acid) micelles for drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2002; 54: 169–190
- [45] Lewinski N., Colvin V., Drezek R.: Cytotoxicity of nanoparticles. *Small*, 2008; 4: 26–49
- [46] Lewis Phillips G.D., Li G., Dugger D.L., Crocker L.M., Parsons K.L., Mai E., Blättler W.A., Lambert J.M., Chari R.J., Lutz R.J., Wong W.L.T., Jacobson F.S., Koeppen H., Schwall R.H., Kenkare-Mitra S.R., Spenser S.D., Sliwkowski M.X.: Targeting HER2-positive breast cancer with trastuzumab-DM1, and antibody-cytotoxic drug conjugate. *Cancer Res.*, 2008; 68: 9280–9290
- [47] Li G.N., Wang S.P., Xue X., Qu X.J., Liu H.P.: Monoclonal antibody-related drugs for cancer therapy. *Drug Discov. Ther.*, 2013; 7: 178–184
- [48] Libutti S.K., Paciotti G.F., Byrnes A.A., Alexander H.R.Jr., Gannon W.E., Walker M., Seidel G.D., Yuldasheva N., Tamarkin L.: Phase I and pharmacokinetic studies of CYT-6091, a novel PEGylated colloidal gold-rhTNF nanomedicine. *Clin. Cancer Res.*, 2010; 16: 6139–6149
- [49] Lim J., Chouai A., Lo S.T., Liu W., Sun X., Simanek E.E.: Design, synthesis, characterization, and biological evaluation of triazine dendrimers bearing paclitaxel using ester and ester/disulfide linkages. *Bioconjugate Chem.*, 2009; 20: 2154–2161
- [50] McDevitt M.R., Chattopadhyay D., Jaggi J.S., Finn R.D., Zanzonico P.B., Villa C., Rey D., Mendenhall J., Batt C.A., Njardarson J.T., Scheinberg D.A.: PET imaging of soluble yttrium-86-labeled carbon nanotubes in mice. *PLoS One*, 2007; 2: e907
- [51] Mukherjee P., Bhattacharya R., Bone N., Lee Y.K., Patra C.R., Wang S., Lu L., Secreto C., Benerjee P.C., Yaszemski M.J., Kay N.E., Mukhopadhyay D.: Potential therapeutic application of gold nanoparticles in B-chronic lymphocytic leukemia (BCLL): Enhancing apoptosis. *J. Nanobiotechnol.*, 2007; 5: 4
- [52] Patel J., Amrutiya J., Bhatt P., Javia A., Jain M., Misra A.: Targeted delivery of monoclonal antibody conjugated docetaxel loaded PLGA nanoparticles into EGFR overexpressed lung tumour cells. *J. Microencapsul.*, 2018; 35: 204–217
- [53] Powroźnik B., Kubowicz P., Pękała E.: Przeciwciała monoklonalne w terapii celowanej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 663–673
- [54] Ranson M.R., Cheeseman S., White S., Margison J.: Caelyx (stealth liposomal doxorubicin) in the treatment of advanced breast cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2001; 37: 115–120
- [55] Richards D.A., Maruani A., Chudasama V.: Antibody fragments as nanoparticle targeting ligands: a step in the right direction. *Chem. Sci.*, 2017; 8: 63–77
- [56] Rose A.A., Grosset A.A., Dong Z., Russo C., MacDonald P.A., Bertos N.R., St-Pierre Y., Simantov R., Hallett M., Park M., Gaboury L., Siegel P.M.: Glycoprotein nonmetastatic B is an independent prognostic indicator of recurrence and a novel therapeutic target in breast cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2010; 16: 2147–2156
- [57] Roy D.C., Ouellet S., Le Houllier C., Ariniello P.D., Perreault C., Lambert J.M.: Elimination of neuroblastoma and small cell lung cancer cells with an anti-neural cell adhesion molecule immunotoxin. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1996; 88: 1136–1145
- [58] Sapra P., Allen T.M.: Ligand-targeted liposomal anticancer drugs. *Prog. Lipid Res.*, 2003; 42: 439–462
- [59] Schmid D., Jarvis G.E., Fay F., Small D.M., Greene M.K., Majkut J., Spence S., McLaughlin K.M., McCloskey K.D., Johnston P.G., Kissenpfennig A., Longley D.B., Scott C.J.: Nanoencapsulation of ABT-737 and camptothecin enhances their clinical potential through synergistic antitumor effects and reduction of systemic toxicity. *Cell Death Dis.*, 2014; 5: e1454
- [60] Schuster C., Eikesdal H.P., Puntervoll H., Geisler J., Geisler S., Heinrich D., Molven A., Lønning P.E., Akslen L.A., Straume O.: Clinical efficacy and safety of bevacizumab monotherapy in patients with metastatic melanoma: Predictive importance of induced early hypertension. *PLoS One*, 2012; 7: e38364
- [61] Senter P.D., Sievers E.L.: The discovery and development of brentuximab vedotin for use in relapsed Hodgkin lymphoma and systemic anaplastic large cell lymphoma. *Nat. Biotechnol.*, 2012; 30: 631–637

- [62] Serpell C.J., Kostarelos K., Davis B.G.: Can carbon nanotubes deliver on their promise in biology? Harnessing unique properties for unparalleled applications. *ACS Cent. Sci.*, 2016; 2: 190–200
- [63] Sharma A., Sharma U.S.: Liposomes in drug delivery: progress and limitations. *Int. J. Pharm.*, 1997; 154: 123–140
- [64] Shukla R., Thomas T.P., Peters J.L., Desai A.M., Kukowska-Latallo J., Patri A.K., Kotlyar A., Baker J.R.Jr.: HER2 specific tumor targeting with dendrimer conjugated anti-HER2 mAb. *Bioconjugate Chem.*, 2006; 17: 1109–1115
- [65] Sosińska-Mielcarek K., Jassem J.: Przeciwciała monoklonalne w leczeniu nowotworów litych. *Onkol. Prakt. Klin.*, 2005; 1: 225–232
- [66] Spearman M.E., Goodwin R.M., Apelgren L.D., Bumol T.F.: Disposition of the monoclonal antibody-vinca alkaloid conjugate KS1/4-DAVLB (LY256787) and free 4-desacetylvinblastine in tumor-bearing nude mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1987; 241: 695–703
- [67] Stern M., Herrmann R.: Overview of monoclonal antibodies in cancer therapy: Present and promise. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2005; 54: 11–29
- [68] Tassone P., Gozzini A., Goldmacher V., Shammas M.A., Whiteman K.R., Carrasco D.R., Li C., Allam C.K., Venuta S., Anderson K.C., Munshi N.C.: *In vitro* and *in vivo* activity of the maytansinoid immunoconjugate huN901-N^{2'}-deacetyl-N^{2'}-(3-mercapto-1-oxopropyl)-maytansine against CD56⁺ multiple myeloma cells. *Cancer Res.*, 2004; 64: 4629–4636
- [69] Tomalia D.A., Reyna L.A., Svenson S.: Dendrimers as multi-purpose nanodevices for oncology drug delivery and diagnostic imaging. *Biochem. Soc. Trans.*, 2007; 35: 61–67
- [70] Tse K.F., Jeffers M., Pollack V.A., McCabe D.A., Shadish M.L., Khramtsov N.V., Hackett C.S., Shenoy S.G., Kuang B., Boldog F.L., MacDougall J.R., Rastelli L., Herrmann J., Gallo M., Gazit-Bornstein G., Senter P.D., Meyer D.L., Lichenstein H.S., LaRochelle W.J.: CR011, a fully human monoclonal antibody-auristatin E conjugate, for the treatment of melanoma. *Clin. Cancer Res.*, 2006; 12: 1373–1382
- [71] Uboldi C., Bonacchi D., Lorenzi G., Hermanns M.I., Pohl C., Baldi G., Unger R.E., Kirkpatrick C.J.: Gold nanoparticles induce cytotoxicity in the alveolar type-II cell lines A549 and NCIH441. *Part. Fibre Toxicol.*, 2009; 6: 18
- [72] Vasir J.K., Reddy M.K., Labhasetwar V.D.: Nanosystems in drug targeting: Opportunities and challenges. *Curr. Nanosci.*, 2005; 1: 47–64
- [73] Xiong J., Han S., Ding S., He J., Zhang H.: Antibody-nanoparticle conjugate constructed with trastuzumab and nanoparticle albumin-bound paclitaxel for targeted therapy of human epidermal growth factor receptor 2-positive gastric cancer. *Oncol Rep.*, 2018; 39: 1396–1404
- [74] Yu C., Irudayaraj J.: Multiplex biosensor using gold nanorods. *Anal. Chem.*, 2007; 79: 572–579
- [75] Zhang H.: Onivyde for the therapy of multiple solid tumors. *Onco Targets Ther.*, 2016; 9: 3001–3007

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.