

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА



МАСТЕР РАД

ПРИМЕНА МОНОКЛОНСКИХ АНТИТЕЛА У ТЕРАПИЈИ КАРЦИНОМА

Ментор:
проф. др Јована Новаковић

Студент:
Александра Безбрадица

Крагујевац, 2026. године

Садржај

1. УВОД.....	7
1.1. МОНОКЛОНСКА АНТИТЕЛА.....	11
1.1.1. Мишља МОНОКЛОНСКА АНТИТЕЛА	13
1.1.2. Химерна МОНОКЛОНСКА АНТИТЕЛА.....	14
1.1.3. Хуманизована МОНОКЛОНСКА АНТИТЕЛА	14
1.1.4. Хумана МОНОКЛОНСКА АНТИТЕЛА	15
1.2. Биспецифична АНТИТЕЛА	17
1.3. Коњугати АНТИТЕЛО-ЛЕК И КОЊУГАТИ АНТИТЕЛО-РАДИОНУКЛИД.....	20
 2. ЦИЉ РАДА	 27
 3. МЕТОДОЛОГИЈА РАДА.....	 28
 4. ПРЕГЛЕД И ДИСКУСИЈА О ЛИТЕРАТУРИ И ДО САДА ДОБИЈЕНИМ РЕЗУЛТАТИМА У ТЕРАПИЈИ КАРЦИНОМА УПОТРЕБОМ МОНОКЛОНСКИХ АНТИТЕЛА.....	 29
4.1.1. Химерна МОНОКЛОНСКА АНТИТЕЛА	31
4.1.2. Хуманизована МОНОКЛОНСКА АНТИТЕЛА	34
4.1.3. Хумана МОНОКЛОНСКА АНТИТЕЛА	38
4.2. Биспецифична АНТИТЕЛА.....	41
4.3. Коњугати РАДИОАКТИВНО ОБЕЛЕЖЕНИХ АНТИТЕЛА, КОЊУГАТИ АНТИТЕЛО-ЛЕК	43
4.4. МОНОКЛОНСКА АНТИТЕЛА У НАЈНОВИЈИМ ПРЕТКЛИНИЧКИМ И КЛИНИЧКИМ СТУДИЈАМА	50
 5. ЗАКЉУЧАК.....	 52
 6. ЛИТЕРАТУРА.....	 53

Скраћенице

Abs (антитела), mAbs (моноклонска антитела), bsAbs (биспецифична антитела), CDR (комплементарни детерминишући региони), ADCC (ћелијска цитотоксичност зависна од антитела), ADCP (ћелијска фагоцитоза зависна од антитела), CDC (цитотоксичност зависна од комплемента), HCL (леукемија длакавих ћелија), EGFR (хумани рецептор епидермалног фактора раста), NSCLC (неситноћелијски карцином плућа), EPCAM (молекула адхезије епителних ћелија), ALL (акутна лимфоцитна леукемија), BiTE (биспецифични Т-ћелијски ангажујући формат), CHO (ћелије јајника кинеског хрчка), NHL (не-Хочкинов лимфом), CLL (хронична лимфоцитна леукемија), HAMA (хумана антимишја антитела), IPI (интернационални прогностички индекс), MDS (мијелодиспластични синдром), AML (акутна мијелоидна леукемија), RIT (радиоимунотерапија), FL (фоликуларни лимфом), PR (делимичан одговор на терапију), CR (комплетан одговор на терапију), EBRT (терапија екстерним зрачењем), ORR (укупна стопа одговора), MMAE (монометилауристатин Е), CTCL (кожни Т-ћелијски лимфом), ADC (коњугат антитело-лек), EBC (рани карцином дојке), LVEF (смањење ејекционе фракције леве коморе), SMIs (инхибитори малих молекула), FACS (сортирање ћелија активирано флуоресценцијом), HCC (хепатоцелуларни карцином), MDSC (мијелоидне супресорске ћелије), DC (дендритске ћелије), PDAC (дуктални аденокарцином панкреаса), MAC (мембрански нападни комплекс), IRR (реакције повезане са инфузијом), ADR (нежељене реакције на лекове), HNSCC (карцином сквамозних ћелија главе и врата), EGFR (екстрацелуларни домен рецептора епидермалног фактора раста), ERK (екстрацелуларна сигнално регулисана киназа), PI3K (фосфоинозитид 3-киназа), JAK (Јанус киназа), STAT (претвараач сигнала и активатор транскрипције), PLC (фосфолипаза C), PKC (протеин киназа C), MEK (митогеном активирана протеин киназа), mCRC (метастатски колоректални карцином), HIF (фактор индукован хипоксијом), mBC (метастатски карцином дојке), GBM (мултиформни глиобластом), RCC (карцином бубрежних ћелија), ALK (анапластична лимфомна киназа).

Табеле и слике

Слика 1. Схематски приказ типичног IgG антитела код сисара. Слика преузета са: <https://absoluteantibody.com/antibody-resources/antibody-overview/antibody-structure/>

Слика 2. Приказ 4 типа mAbs. Слика преузета са: <https://old-ib.bioninja.com.au/higher-level/topic-11-animal-physiology/111-antibody-production-and/monoclonal-antibodies.html>

Слика 3. Приказ хуманих и хуманизованих антитела. Слика преузета из рада: Lotus M, Julian D, Andrew G et al. Molecular Insights into Fully Human and Humanized Monoclonal Antibodies. J Clin Aesthet Dermatol.2016;1;9(7):13-15.

Слика 4: Механизам деловања Ибритумомаб Тиукетана (бренд Зевалин). Слика преузета из рада: D. Rizzieri. Zevalin(ibrutumomab tiuxetan): After more than a decade of treatment experience, what have we learned?. Critical Reviews in Oncology/Hematology.105 (2016) 5-17

Слика 5: Механизам деловања Брентуксимаб ведотина (Адцентрис). Слика преузета из рада: Van der Weyden, C., Dickinson, M. at all. Brentuximab vedotin in T-cell lymphoma. Expert Review of Hematology. 2019 Jan;12(1):5-19.

Слика 6: Механизам деловања ритуксимаба. Слика преузета из рада: Cartron G, Watier H at all. From the bench to the bedside: ways to improve rituximab efficacy. Blood, 2021 (print ISSN 0006-4971, online ISSN 1528-0020)

Табела 1. Критеријуми укључивања и искључивања студија за преглед литературе

Сажетак

Увод: Моноклонска антитела (mAbs) представљају једну од најзначајнијих терапијских класа савремене онкологије, омогућавајући селективно циљање туморских ћелија уз ограничено оштећење здравог ткива. Поред карцинома, значајну улогу имају и у лечењу инфламаторних и аутоимунских болести, као и у превенцији одбацивања калема, а њихова клиничка примена континуирано се шири захваљујући новим структурним платформама и напретку у идентификацији предиктивних биомаркера за персонализовани избор терапије.

Циљ: Циљ овог мастер рада јесте да, на основу критичке анализе одабране научне литературе, пружи детаљан и научно заснован преглед примене моноклонских антитела у терапији малигних болести, од класификације и механизма дејства, преко клиничке примене и безбедносног профила, до најновијих достигнућа у области биомаркера, иновативних терапијских платформи и биосимила.

Метод: Анализиране су студије доступне у базама PubMed, SCI-индекс и *Kobson*, објављене у периоду јануара 2015. - мај 2026. године. Претрага је вршена кључним речима *Biopharmaceuticals*, *Monoclonal antibodies*, *Mouse antibodies*, *Chimeric antibodies*, *Humanized antibodies*, *Human antibodies* и *Immunotherapy in oncology*, самостално или у комбинацији с називом конкретног антитела/мете, уз циљану претрагу уназад полазећи од референци кључних прегледних радова.

Резултати: Анализиране студије показале су да су моноклонска антитела високоефикасна циљана терапија бројних типова карцинома, нарочито тумора који експримирају специфичне антигене, при чему клиничка корист у значајној мери зависи од прецизне молекулске карактеризације тумора (HER2 статус, укључујући HER2-low/HER2-ultralow континуум; RAS/RAF статус; PD-L1 експресија; MSI-H/dMMR статус). Нежељени ефекти терапије, укључујући имунски посредоване реакције инхибитора имунолошких контролних тачака, могу се успешно контролисати адекватним праћењем и правовременим третманом. Преглед новије литературе показао је и значајан напредак биспецифичних Т-ћелијских ангажера са применом код солидних тумора, нових коњугата антитело-лек и CAR-T терапије, као и убрзано ширење тржишта биосимила.

Закључак: Терапија моноклонским антителима, код индикација и молекулски дефинисаних подгрупа пацијената где је ефикасност документована, доприноси бољем преживљавању и повољнијем безбедносном профилу у поређењу са стандардним терапијама, при чему комбинована примена може довести до синергистичког ефекта. Ефекти терапије, међутим, нису универзални, што намеће потребу за прецизном молекулском селекцијом пацијената. Даљи развој предиктивних биомаркера, персонализоване медицине и биосимила, уз проширивање спектра терапијских мета и платформи, представља кључни правац унапређења терапијског одговора у лечењу малигних болести.

Кључне речи: биофармацеутици, моноклонска антитела, мишја антитела, химерна антитела, хуманизована антитела, хумана антитела, имунотерапија у онкологији

Abstract

Introduction: Monoclonal antibodies (mAbs) represent one of the most significant therapeutic classes in modern oncology, enabling selective targeting of tumor cells while limiting damage to healthy tissue. Beyond cancer, they also play a significant role in the treatment of inflammatory and autoimmune diseases, as well as in the prevention of graft rejection, with their clinical application continuously expanding owing to novel structural platforms and advances in the identification of predictive biomarkers for personalized treatment selection.

Aim: The aim of this master's thesis is to provide, based on a critical analysis of selected scientific literature, a detailed and scientifically grounded review of the application of monoclonal antibodies in the treatment of malignant diseases — from classification and mechanisms of action, through clinical application and safety profile, to the most recent developments in biomarkers, innovative therapeutic platforms, and biosimilars.

Methods: Studies available in the PubMed, SCI-index, and Kobson databases, published between January 2015 and May 2026, were analyzed. The literature search was conducted using the keywords Biopharmaceuticals, Monoclonal antibodies, Mouse antibodies, Chimeric antibodies, Humanized antibodies, Human antibodies, and Immunotherapy in oncology, alone or in combination with the name of a specific antibody/target, supplemented by a targeted backward search based on the references of key review articles.

Results: The analyzed studies showed that monoclonal antibodies are a highly effective targeted therapy for numerous types of cancer, particularly tumors expressing specific antigens, with clinical benefit largely dependent on precise molecular characterization of the tumor (HER2 status, including the HER2-low/HER2-ultralow continuum; RAS/RAF status; PD-L1 expression; MSI-H/dMMR status). Treatment-related adverse effects, including immune-mediated reactions characteristic of immune checkpoint inhibitors, can be successfully managed through adequate monitoring and timely intervention. The review of recent literature also revealed substantial progress in bispecific T-cell engagers with application in solid tumors, novel antibody-drug conjugates, and CAR-T therapy, as well as the rapid expansion of the biosimilar market for monoclonal antibodies.

Conclusion: Monoclonal antibody therapy, in indications and molecularly defined patient subgroups where efficacy has been documented, contributes to improved survival and a more favorable safety profile compared with standard therapies, and combined use may lead to a synergistic effect. Treatment effects, however, are not universal, which underscores the need for precise molecular patient selection. Further development of predictive biomarkers, personalized medicine, and biosimilars, together with the expanding spectrum of therapeutic targets and platforms, represents a key direction for improving therapeutic response in the treatment of malignant diseases.

Key words: biopharmaceuticals, monoclonal antibodies, mouse antibodies, chimeric antibodies, humanized antibodies, human antibodies, immunotherapy in oncology

1. Увод

Карцином представља један од водећих узрока морбидитета и морталитета у свету, а упркос значајном напретку у дијагностици и лечењу, и даље представља велики терапијски изазов. Конвенционални приступи, као што су хирургија, хемиотерапија и радиотерапија, често су ограничени токсичношћу за здраво ткиво и развојем резистенције тумора, што је допринело потреби за прецизнијим, циљаним терапијским стратегијама. Моноклонска антитела (mAbs) данас се сматрају једним од најзначајнијих достигнућа модерне онкологије, јер омогућавају селективно циљање туморских ћелија уз минимизирање оштећења здравог ткива, а њихова клиничка примена континуирано се проширује захваљујући напретку биотехнологије и инжењеринга антитела [1].

Моноклонска антитела (mAbs) представљају најзаступљенију класу биофармацеутика и научници широм света непрестано их унапређују. Производња ових моноспецифичних антитела започета је 1975. године када су *Georges Köhler* и *César Milstein* фузионисали бесмртне ћелије мијелома са Б-лимфоцитима, стварајући хибридома ћелије. За своја научна истраживања 1984. године добили су награду за основна медицинска истраживања Алберта Ласкера, као и Нобелову награду за физиологију или медицину, коју су поделили са *Niels Kaj Jerne* [2]. Управо технологија хибридома омогућила је производњу моноклонских антитела усмерених на велики број различитих антигена и поставила је темеље савременој имунотерапији.

Моноклонска антитела имају значајну улогу у биохемији, молекуларној биологији и клиничкој медицини, где се тренутно највише примењују у терапији малигних и инфламаторних болести, као и у превенцији одбацивања након трансплантације органа. Поред тога, њихова примена се интензивно испитује и у лечењу кардиоваскуларних болести, инфекција, респираторних обољења и офталмолошких стања [3,4].

Код сисара постоји пет главних класа антитела, од којих свака има специфичну улогу у имунском одговору: **IgG, IgA, IgM, IgE и IgD** [5,6,7,8].

IgG је најзаступљенија класа антитела у серуму, чинећи око 70-75% укупних имуноглобулина. Кључну улогу има у секундарном имунском одговору, где обезбеђује дуготрајну заштиту од патогена. Због своје дуге стабилности у крвотоку и способности да пролази кроз плаценту, IgG је најчешће коришћена класа антитела у терапијским применама.

IgA је друга значајна класа која се углавном налази у телесним секретима попут пљувачке, суза, мукуса и мајчиног млека. Има кључну улогу у мукозном имунитету, спречавајући адхезију патогена за епителне ћелије, нарочито у дигестивном, респираторном и урогениталном тракту.

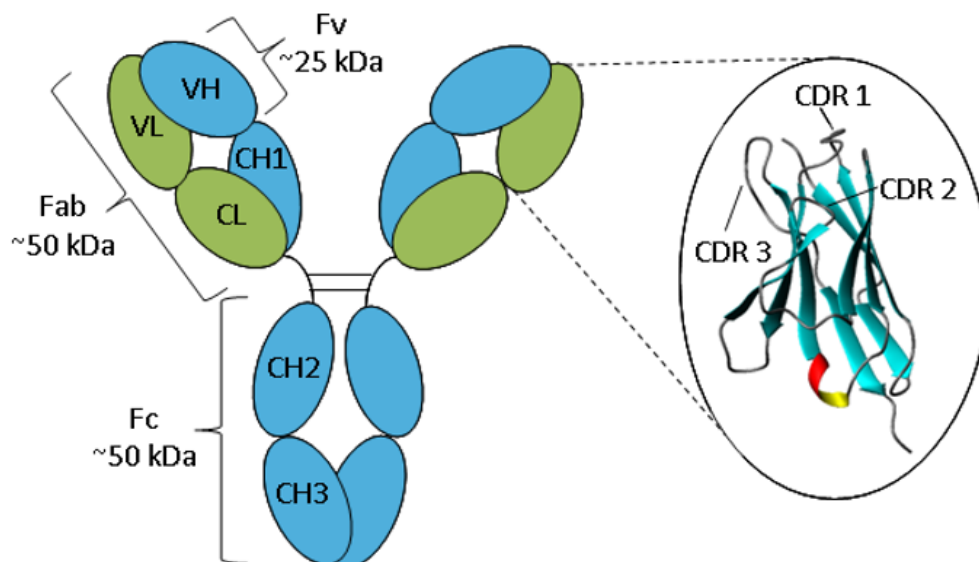
С друге стране, **IgM** је прва класа антитела која се синтетише у примарном имунском одговору. Због пентамерне структуре, изузетно је ефикасан активатор система комплемента, јер истовремено везује више антигенских епитопа. Иако је заступљен у мањој концентрацији од IgG, игра кључну улогу у раној фази одбране од инфекције.

IgE учествује у алергијским реакцијама и одбрани од паразитских инфекција. Иако је присутан у веома ниским серумским концентрацијама, његово везивање за високоафинитетне рецепторе на базофилима и мастоцитима покреће дегранулацију и ослобађање хистамина и других медијатора инфламације, што доводи до алергијских симптома.

На крају, **IgD** се налази у веома ниским концентрацијама у серуму, а његова главна функција је коекспресија са **IgM** на површини наивних Б-лимфоцита, где заједно чине рецептор за антиген (BCR) и учествују у активацији и сазревању Б-ћелија.

Од свих изотипова, **IgG** је најзначајнији за терапијску примену због дугог полуживота, структурне разноврсности и способности интеракције са Fc-рецепторима, због чега представља доминантну платформу у дизајну терапијских моноклонских антитела за лечење карцинома, инфламаторних болести и инфекција [9].

Типично IgG антитело сисара грађено је од две идентичне копије лаког ланца (~25 kDa) и два идентична тешка ланца (~50 kDa), повезаних у структуру са два Fab фрагмента и једним Fc фрагментом. Fab и Fc региони повезани су флексибилним зглобним (енгл. *hinge*) регионом, који протеазама омогућава лако раздвајање молекула на ове фрагменте. Fab фрагмент чине варијабилни (VL) и константни (CL) домен лаког ланца, као и варијабилни (VH) и први константни (CH1) домен тешког ланца, док Fc фрагмент чине други и трећи константни домен тешког ланца (CH2 и CH3) [10] (**Слика 1**).



Слика 1. Схематски приказ типичног IgG антитела код сисара. Слика преузета са [11]. : <https://absoluteantibody.com/antibody-resources/antibody-overview/antibody-structure/>. последњи пут посећен: 10. маја 2026. године.

Варијабилни региони тешког и лаког ланца настају соматском рекомбинацијом гена: тешки ланац рекомбинацијом V, D и J генских сегмената, а лаки ланац рекомбинацијом V и J сегмената. Комбиновањем расположивих V, D и J сегмената теоријски је могуће генерисати ред величине милион различитих комбинација секвенци, при чему се разноврсност додатно увећава кроз:

1. инсерцију и делецију нуклеотида на VD, DJ и VJ спојевима, чиме настаје варијабилност у дужини и секвенци споја;
2. соматску хипермутацију, која настаје као последица антигенске стимулације и додатно модификује афинитет и специфичност антитела;
3. посттранслационе модификације, попут гликозилације и сулфатације тирозина.

Fab домен препознаје антиген помоћу шест хиперваријабилних CDR петљи (комплементарних детерминишућих региона). По три петље потичу из лаког и тешког ланца, и протежу се из структурно очуваног оквирног региона и формирају већину контаката са антигеном. Најваријабилнија петља (CDR3) формира се управо на VDJ споју, а додатна варијабилност настаје инсерцијом или делецијом нуклеотида између V-D и D-J сегмената [10].

Поред секвенционе разноврсности, моноклонска антитела показују изражену структурну хетерогеност која произлази из посттранслационих модификација. Ове модификације значајно утичу на стабилност антитела, интеракцију са Fc-рецепторима и механизме дејства, због чега је њихово разумевање, посебно разумевање гликозилације, од суштинског значаја за рационалан дизајн, производњу и клиничку примену терапијских антитела [12,13,14].

Терапијска антитела класе IgG носе неколико типова посттранслационих модификација, од којих гликозилација Fc региона представља најизраженији извор молекулске хетерогености и има кључну улогу у стабилности молекула и његовој интеракцији са Fc-рецепторима *in vivo*. Састав гликанских структура директно утиче на механизам дејства антитела, као и на његову биоактивност, безбедност и клиничку ефикасност [15].

Антитела класе IgG су N-гликозилована на аспарагину у положају 297 (Asn297) у CH2 домену Fc региона оба тешка ланца, што значајно утиче на ефикасност Fc-посредованих интеракција са рецепторима имунских ефекторских ћелија. Овај ефекат нарочито долази до изражаја код антитела чији механизам дејства зависи од имунски посредованих ефекторских функција, ћелијске цитотоксичности зависне од антитела (ADCC), ћелијске фагоцитозе зависне од антитела (ADCP) и цитотоксичности зависне од комплемента (CDC). Циљаном модификацијом гликанских структура у Fc региону (нпр. смањењем степена фукозилације) могуће је значајно појачати ADCC-посредовану цитотоксичност и терапијску активност антитела усмереног на циљни антиген, што указује на то да је контрола гликозилације кључан корак у оптимизацији терапијских антитела. Иако се хетерогеност посттранслационих модификација код малих молекулских лекова углавном сматра недостатком, код терапијских антитела она може представљати значајну предност, омогућавајући додатну прилагодљивост функције молекула [16].

Физиолошка улога имунског система у контроли малигних болести описана је концептом имунолошког надзора тумора (енгл. *immune surveillance*), који су средином XX века предложили *Burnet* и *Thomas*, а према коме имунски систем препознаје и елиминира трансформисане ћелије пре него што формирају клинички уочљив тумор, односно елиминира тумор уколико је до његовог формирања већ дошло [17]. Савременији и свеобухватнији концепт, имунско едитовање тумора (енгл. *cancer immunoediting*), описује динамичан однос између туморских ћелија и имунског система кроз три узастопне фазе:

- 1) фазу елиминације, која одговара класичном имунолошком надзору и укључује активацију урођеног и адаптивног имунитета;

- 2) фазу равнотеже (енгл. *equilibrium*), у којој имунски систем контролише раст тумора, а туморске ћелије, услед константног имунског притиска, акумулирају нове мутације и постепено бивају селековане клонови са смањеном имуногеношћу; и
- 3) фазу бекства (*escape*), у којој агресивније и мање имуногене туморске ћелије успевају да избегну имунски надзор, уз паралелно успостављање имуносупресивне туморске микросредине [18].

Овај концепт директно објашњава зашто временом долази до смањења ефикасности имунски посредоване контроле тумора и зашто циљана имунотерапија, укључујући терапију моноклонским антителима, представља рационалну стратегију за поновно успостављање антитуморског имунског одговора [18].

Антигени које имунски систем препознаје као стране на туморским ћелијама могу се сврстати у неколико категорија: неоантигене, настале као производи мутираних гена (укључујући и производе водећих онкогена и мутираних тумор-супресорских гена, попут мутираног Ras протеина или протеина p53); антигене диференцијације, присутне и на туморским и на здравим ћелијама ткива порекла тумора, али у тумору експримиране у већој количини (нпр. тирозиназа и gp100 код меланома, CD20 на Б-ћелијским лимфомима); антигене типа рак/тестис (нпр. MAGE), физиолошки експримиране искључиво у имунопривилегованим ткивима попут тестиса, али аберантно активирани у одређеним туморима; прекомерно експримиране, немутиране протеине услед амплификације одговарајућег гена (нпр. HER2/Neu код карцинома дојке); и антигене онкогених вируса (нпр. HPV код карцинома грлића материце, EBV код Б-ћелијског лимфома) [19]. Идентификација ових категорија антигена представља молекулску основу за рационалан избор циљних молекула у развоју терапијских моноклонских антитела и других облика имунотерапије описаних у наставку овог рада.

1.1. Моноклонска антитела

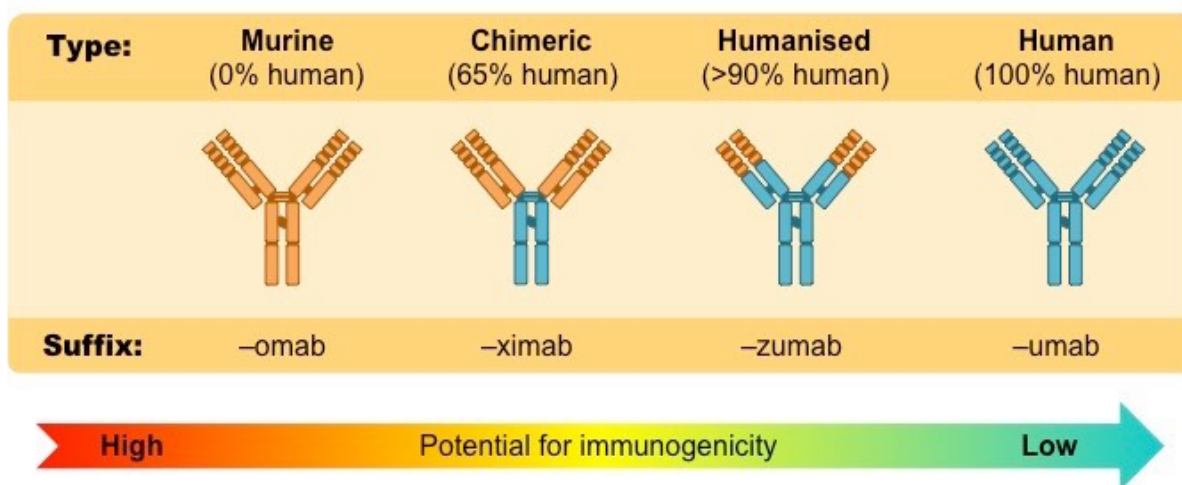
Антитела (Abs) су гликопротеини који припадају суперфамилији имуноглобулина, а синтетишу их и луче Б-лимфоцити чија је функција специфично препознавање антигена и учешће у његовој неутрализацији и елиминацији. Употреба антитела у терапијске сврхе датира из периода пре развоја технологија за производњу моноклонских антитела. У раном периоду коришћени су антисеруми добијени хиперимунизацијом животиња за лечење инфективних болести попут ботулизма и дифтерије, на пример, антитоксин против дифтерије, IgG фракција специфична за дифтеријски токсин, изолован је из серума имунизованих коња. Данас је, међутим, познато да примена хетерологних (коњских) серумских протеина код људи може изазвати озбиљне имунолошке реакције, укључујући серумску болест и анафилаксу [3].

Значајно ограничење у примени Б-лимфоцита за производњу антитела јесте њихов кратак *in vitro* животни век, због чега нису погодан извор за производњу великих количина специфичних антитела. Хибридомска технологија превазишла је ово ограничење фузијом изолованих Б-лимфоцита животиња имунизованих циљним антигеном са трансформисаним мијеломским ћелијама, чиме настају хибридомске ћелије. Ове ћелије се сматрају „бесмртним“ јер задржавају способност неограничене деобе уз континуирану секрецију специфичног антитела, што омогућава производњу моноклонских антитела у количинама довољним за терапијску примену [21].

Развој првих терапијских mAb започет је током 1980-их година, почевши од пионирских студија групе Рона Левија на Универзитету Станфорд, која је произвела специфична моноклонска антиидиотипска антитела за лечење пацијената са лимфомом. Ове студије су доказале концепт да mAb могу имати снажан антитуморски ефекат и да су безбедни за употребу [20,21,22]. Међутим, њихова комерцијализација била је ограничена због њихове специфичности за појединца (пацијента). У исто време, антитела су коришћена за испитивање протеина на површини ћелије, што је резултирало идентификацијом антигена који су ограничени на Б-ћелије, као што су CD19 и CD20. Ово откриће отворило је пут за производњу терапеутских mAb који би се могли користити код пацијената чији тумори експримирају ове антигене. С обзиром на распрострањену експресију CD20 на малигним Б ћелијама, започела су испитивања мишјих моноклонских антитела против CD20. Резултати су показали да су ова антитела безбедна, али да поседују ограничену клиничку активност. Детаљније информације о овим испитивањима биће представљене у наставку овог рада [3,4,23,24].

Међународне незаштићене називе (енгл. *International Nonproprietary Names*, INN) за моноклонска антитела утврђује Светска здравствена организација (СЗО) која разликује типове моноклонских антитела на основу њихове структуре. Мишја антитела се означавају суфиксом (-омаб), химерна (-ксимаб), хуманизована (-зумаб), а потпуно људска (-умаб)

(Слика 2.). Значајно је напоменути да је СЗО 2021. године ревидирала овај систем номенклатуре, укинувши подсуфиксе који означавају врсту порекла за нова антитела (сва нова mAbs данас добијају једнообразни завршетак „-маб“), тако да се овде описана шема суфикса и даље примењује на већину до сада одобрених лекова, али више не важи за антитела регистрована после 2021. године [10]. Према важећим смерницама, додела генеричког назива не зависи од технологије којом је антитело добијено, већ од степена сличности секвенце варијабилног региона са хуманом секвенцом, граница између „потпуно хуманих“, „хуманизованих“ и „химерних“ mAbs је, према томе, релативна, а не апсолутна [10].



Слика 2. Приказ 4 типа mAbs. Слика преузета са [25] : <https://old-ib.bioninja.com.au/higher-level/topic-11-animal-physiology/111-antibody-production-and/monoclonal-antibodies.html>, последњи пут посећен: 23. јуна 2026. године.

Терапијска антитела, у ширем смислу биофармацеутика, обухватају не само класична моноклонска антитела већ и њихове деривате:

1. биспецифична антитела (bsAbs);
2. коњугате антитело-лек и коњугате антитело-радионуклид;
3. фрагменте антитела (нпр. Fab) и Fc-фузиони протеини.

Ове три групе детаљно су обрађене у наредним поглављима овог рада [3].

1.1.1. Мишја моноклонска антитела

Крајем 1980-их започет је развој мишјих mAbs, поступком који је подразумевао имунизацију мишева циљним антигеном ради стимулације хуморалног имунског одговора и активације Б-лимфоцита. Изоловани Б-лимфоцити потом су фузионисани са мишјим мијеломским ћелијама, а одговарајућим селекционим техникама издвојени су хибридомски клонови који секретују мишје моноклонско антитело специфично за антиген од интереса; ови клонови су затим умножавани у количинама потребним за даљу примену [21,26,27].

Први терапеутски биофармацеутик заснован на овој технологији, а уједно и прво терапијско моноклонско антитело одобрено за клиничку употребу уопште, био је **муромонаб-CD3** (трговачки назив *Orthoclone OKT3*), мишје анти-CD3 IgG2a антитело регистровано 1986. године за превенцију и лечење акутног одбацивања калема након трансплантације бубрега. Иако намењен неонколошкој индикацији, овај лек представља историјски значајну прекретницу, будући да је по први пут демонстрирао клиничку изводљивост производње и примене моноклонског антитела код људи [26].

Иако су представљала прву генерацију терапијских антитела, мишја mAbs испољавала су значајну имуногеност код људи, што доводи до стварања хуманих антимишјих антитела (НАМА), праћену убрзаном елиминацијом из циркулације, смањеном терапијском ефикасношћу и повећаним ризиком од инфузионих и хиперсензитивних реакција [27]. Управо су ова ограничења представљала главни подстицај за развој химерних, хуманизованих и потпуно хуманих mAbs, који данас чине основу савремене имунотерапије карцинома.

Због изражене имуногености и последично ограничене клиничке ефикасности, мишја антитела данас немају самосталну улогу у терапији солидних и хематолошких малигнитета, због чега се у наставку овог мастер рада даља дискусија о клиничкој примени mAbs у онкологији фокусира искључиво на химерне, хуманизоване и потпуно хумане молекуле, категорије које су мишја антитела временом у потпуности заменила у клиничкој пракси.

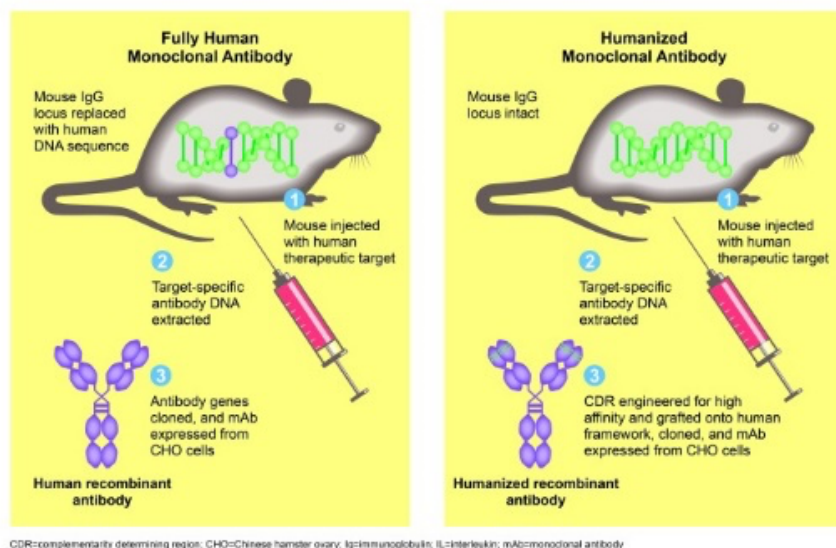
1.1.2. Химерна моноклонска антитела

Ради превазилажења имуногености мишјих mAbs код људи, развијена су химерна мишје-хумана антитела, добијена спајањем целокупног антиген-специфичног варијабилног домена мишјег антитела са константним доменима хуманог антитела применом техника генетског инжењеринга. На овај начин настају молекули са приближно 65% хуманог порекла секвенце. Гени који кодирају варијабилне регионе тешког и лаког ланца изолују се из мишје хибридомске ћелијске линије, док се гени за константне регионе преузимају из хуманих секвенци, након чега се генским инжењерингом конструише химерни ген који кодира антитело са мишјим варијабилним и хуманим константним регионима. Химерна mAbs имају продужен полуживот у циркулацији и мању имуногеност у поређењу са мишјим антителима, али и даље могу индуковати стварање хуманих антихимерних антитела (НАСА) усмерених против преосталог мишјег дела молекула [28].

1.1.3. Хуманизована моноклонска антитела

Ради даљег смањења ризика од имуних реакција, развијена је стратегија хуманизације антитела, која подразумева калемљење искључиво региона који одређују комплементарност (CDR), пореклом из мишје секвенце, на хумани оквирни (енгл. *framework*) регион антитела, уз задржавање функционалног афинитета за антиген. На овај начин настају молекули са око 95% хуманог порекла секвенце, чиме се додатно смањује имуногеност у односу на химерна антитела, иако захтевност поступка инжењеринга (оптимизација CDR-петљи ради очувања афинитета) представља технички изазовнији процес производње [28,29].

Кључна разлика између потпуно хуманих и хуманизованих mAbs огледа се у начину настанка: потпуно хумана антитела добијају се коришћењем трансгених мишева чији је ендогени имуноглобулински локус замењен хуманим, док се хуманизована антитела добијају инжењерингом код мишева са неизмењеним (нативним) геномом, при чему се молекуларним техникама у хумани оквир пресађују само мишје CDR секвенце [28].



CDR=complementarity determining region; CHO=Chinese hamster ovary; Ig=immunoglobulin; IL=interleukin; mAb=monoclonal antibody

Слика 3. Приказ хуманих и хуманизованих антитела. Слика преузета из рада [30]. *Lotus M, Julian D, Andrew G et al. Molecular Insights into Fully Human and Humanized Monoclonal Antibodies. J Clin Aesthet Dermatol.2016;1;9(7):13-15.*

Процес добијања потпуно хуманог mAbs може укључивати технологију приказа фага (енгл. *phage display*) или имунизацију трансгених мишева, док хуманизација увек почиње имунизацијом обичних мишева, идентификацијом антитела жељеног афинитета и накнадним преношењем CDR региона на хумани оквир. Резултујућа антитела имају високу хомологију са хуманим имуноглобулинима, уз извесне разлике управо у CDR регионима. Ове секвенционе разлике, присутне и код потпуно хуманих и код хуманизованих mAbs, могу условити стварање антитела против лека (енгл. *anti-drug antibodies*, ADA), што потенцијално утиче на клиничку ефикасност терапије [31].

1.1.4. Хумана моноклонска антитела

Ограничења мишјих, химерних и хуманизованих mAbs учинила су развој потпуно биокомпатибилних (хуманих) моноклонских антитела приоритетом у инжењерингу терапијских протеина. Развој *in vitro* технологије приказа фага, као и трансгених сојева мишева који експримирају хумане варијабилне домене имуноглобулина, омогућио је производњу потпуно хуманих mAbs [32].

Хумана mAbs добијају се или из трансгених мишева генетски модификованих да носе хумане имуноглобулинске гене, при чему антитело пролази кроз *in vivo* сазревање афинитета, или *in vitro* технологијама селекције. Панитумумаб, прво одобрено потпуно

хумано mAb, регистрован је у САД 2006. године за лечење метастатског колоректалног карцинома који експримира EGFR, код пацијената након претходне хемотерапије [33].

Интересантно је да и антитела из људске секвенце могу изазвати значајне имуне одговоре. Према студији из 2010. године, унутар групе одобрених потпуно хуманих антитела, разлика у учесталости нежељених имуних одговора између потпуно хуманих и хуманизованих антитела је минимална. Ово сугерише да су потпуно људска антитела достигла границу у смислу смањења имуногености, те да је за даље побољшање потребан напреднији молекуларни инжењеринг [31,34].

За генерисање хуманих антитела тренутно се користе две главне стратегије:

1. трансгени мишеви и
2. *in vitro* технологије селекције.

Технологија приказа фага (енгл. *Phage display*) једна је од најчешће коришћених *in vitro* технологија за добијање потпуно хуманих антитела. Принцип се заснива на уметању гена за антитело (или његов фрагмент) у геном бактериофага, чиме се антитело приказује на површини честице фага, физички повезано са геном који га кодира. Овај принцип омогућава истовремену селекцију и идентификацију антитела жељеног афинитета из великих комбинаторних библиотека (реда величине 10^9 - 10^{10} варијаната), кроз узастопне циклусе везивања за антиген, испирања неспецифично везаних фагова и умножавања (поступак познат као „панирање“, енгл. *panning*). Технологију приказа на нитастим (филаментозним) бактериофагима описао је 1985. године *George P. Smith*, а данас се примењује како за селекцију интактних антитела, тако и за селекцију њихових фрагмената (scFv, Fab) [34].

Предуслов за успешну примену *phage display* технологије у развоју рекомбинантних хуманих антитела јесте изградња високо квалитетних, разнородних библиотека антитела. Хумани геном садржи процењено 20.000-25.000 гена који кодирају протеине, али се, услед алтернативног сплајсовања иРНК и посттранслационих модификација, претпоставља да је број различитих протеинских производа знатно већи од броја гена, што намеће потребу за алатима за испитивање количине, локализације и функције сваког протеинског производа [16]. Антитела добијена *phage display* технологијом представљају једно од кључних средстава за функционалну карактеризацију хуманог протеома, а њихова главна предност у дијагностичке сврхе јесте директан приступ генетској информацији о антителу, што омогућава брзу адаптацију и реинжењеринг формата молекула [35].

Мокетумомаб пасудотокс (*Lumoxiti*), рекомбинантни имунотоксин усмерен на CD22, пример је терапеутика добијеног *phage display* технологијом, одобреног 2018. године за лечење леукемије влакнатиств хелија. Сличним приступом добијен је и нецитумумаб, потпуно хумано анти-EGFR антитело одобрено 2015. године за лечење метастатског сквамозног NSCLC у комбинацији са хемотерапијом [36,37].

Алтернативни приступ добијању потпуно хуманих антитела заснива се на трансгеним мишевима који носе репертоар хуманих имуноглобулинских гена уместо мишјих, што омогућава примену класичне хибридомске технологије за добијање хуманих антитела уз предност *in vivo* сазревања афинитета. Панитумумаб и голимумаб примери су терапеутика добијених овим приступом која су достигла клиничку примену [38].

1.2. Биспецифична антитела

Биспецифична антитела (bsAbs) представљају класу инжењерски дизајнираних антитела способних да посредују у механизмима дејства недоступним моноспецифичним mAbs, пре свега истовременим везивањем за два различита епитопа или антигена [39].

Код мултифакторски условљених болести, попут малигних и инфламаторних обољења, истовремена инхибиција више патогених механизма може значајно унапредити терапијску ефикасност. Управо у ту сврху дизајнирана су bsAbs, вештачки протеински конструкти састављени од фрагмената два различита моноклонска антитела, способни да се истовремено вежу за два различита антигена. У имунотерапији карцинома најчешће се користе за истовремено везивање туморског антигена и активационог рецептора на цитотоксичној имунској ћелији (нпр. CD3 на Т-лимфоцитима), чиме се физички приближавају ефекторска и циљна ћелија и покреће усмерена цитотоксичност.

Према прегледу из 2017. године [40], Европска агенција за лекове (ЕМА) је до тада одобрила два bsAbs:

1. **Катумаксомаб** (*Removab*) хибридно пацовско-мишје трифункционално моноклонско IgG2 антитело, добијено квадрома (*quadroma*) технологијом фузијом пацовске и мишје хибридомске ћелијске линије; прво одобрено bsAb, примењивано у интраперитонеалном лечењу малигног асцитеса. Из комерцијалних разлога повучено је са тржишта 2017. године на захтев произвођача.
2. **Блинатумомаб** (*Blinicyto*) регистрован 2014. године од стране америчке Управе за храну и лекове (енгл. *Food and Drug Administration*, FDA) за лечење релапсиране или рефракторне, *Philadelphia*-хромозом-негативне акутне лимфобластне леукемије (B-ALL) код одраслих.

Према новијем прегледу, до 2020. године, поред наведених, одобрен је и bsAb за неонколошку индикацију **емицизумаб** (хемофилија А), а од тада је регулаторно одобрење добило још 11 bsAbs, од којих је девет намењено лечењу малигних болести (**амивантамаб**, **тебентафусп**, **мосунетузумаб**, **кадонилимаб**, **теклистамаб**, **глофитамаб**, **епкоритамаб**, **талкветамаб**, **елранатамаб**), а два неонколошким индикацијама (**фарицимаб**, **озоралумаб**). Значајно је да су, од укупно 13 тада одобрених bsAbs, два, емицизумаб и фарицимаб, достигла статус „**блокбастер**“ лека [41].

Напредак у протеинском инжењерингу омогућио је развој бројних структурних формата bsAbs, од биспецифичних нанотела до тетраспецифичних, тетравалентних

молекула заснованих на IgG скелету. Већина bsAbs дизајнирана је да преусмерава имунске ефекторске ћелије ка туморском микроокружењу, где индукују формирање имунолошке синапсе, активацију ефекторских ћелија и секрецију проинфламаторних цитокина, што резултира лизом туморских ћелија [42].

BsAbs представљају другу генерацију имунотерапеутика заснованих на антителима. Једна од кључних стратегија ове платформе јесте регрутовање имунских ефекторских ћелија комбиновањем домена који везује CD3 (или Fc рецептор) са доменом усмереним против туморског антигена. Постоје два основна структурна формата:

- (1) молекули „сличан IgG-y" и
- (2) молекули „несличан IgG-y".

Формати слични IgG-y задржавају Fc-посредоване ефекторске функције (ADCC, CDC, ADCP) и повољна фармакокинетичка својства (дужи полуживот, стандардизоване методе пречишћавања). Насупрот томе, формати несличан IgG-y одликују се мањом молекулском масом, што омогућава бољу пенетрацију у ткиво и мању неспецифичну активацију урођеног имунитета (услед одсуства Fc региона), али и краћим полуживотом у циркулацији.

Примери одобрених bsAbs формата несличних IgG-y укључују:

1. „scFv-based BiTE" формат кратког полуживота, примењен у блинатумомабу (*Amgen*);
2. формат заснован на фузији Т-ћелијског рецептора (TCR) и scFv-a, *ImmTAC* платформа компаније Immunocore, примењен у тебентафуспу (лек за лечење увеалног меланом);
3. тровалентни, биспецифични, тандем-нанотело формат са продуженим полуживотом захваљујући везивању за хумани серумски албумин (HSA), развијен од стране компаније *Ablynx* и примењен у озоралумабу (лек за инфламаторне болести).

И поред разноликости расположивих формата, већина одобрених bsAbs и даље представља молекуле сличне IgG-y, са фармакокинетиком упоредивом са класичним антителима захваљујући присуству Fc региона; управо стога недавна регулаторна одобрења иду у прилог фокусирању индустрије на класичне хетеродимерне, IgG-сличне bsAb формате [42].

Катумаксомаб је прво пацовско-мишје хибридно, трифункционално биспецифично моноклонско антитело које је изашло на тржиште. У Европској унији одобрено је у априлу 2009. године за интраперитонеално лечење пацијената са малигним асцитесом, чиме је постало прва регулаторно одобрена терапија специфично намењена овој индикацији код епителних тумора (нпр. карцинома јајника, желуца, дебелог црева, панкреаса, простате, плућа и ендометријума). Молекул комбинује особине класичних моноклонских антитела и биспецифичних конструката: састоји се од мишјег IgG2a и пацовског IgG2b ланца, добијених квадрома технологијом. Једно везујуће место антитела препознаје Т-лимфоците преко CD3, друго везује туморске ћелије преко ЕpCAM антигена, док интактан Fc регион представља треће, функционално везујуће место способно да селективно активира помоћне ћелије које носе Fcγ рецепторе типа I, II или III. Молекул адхезије хуманих епителних

ћелија (ЕрСАМ) је трансмембрански гликопротеин типа I који је у нормалном ткиву експримиран искључиво базолатерално и заклоњен чврстим спојевима (енгл. *tight junctions*), што ограничава његову доступност за антитело. У туморским ћелијама, насупрот томе, ЕрСАМ се експримира на читавој површини ћелије, чиме постаје лако доступан за везивање антитела. ЕрСАМ спада међу најчешће и најинтензивније експримирани туморски-асоциране антигене, што га чини атрактивном метом за терапију различитих карцинома антителима, сазнање потврђено и клиничким испитивањима других анти-ЕрСАМ конструктора. Посебно висока експресија ЕрСАМ забележена је код малигног асцитеса, перитонеалне карциноматозе и малигних плеуралних излива [43,44].

Катумаксомаб се не везује за инхибиторни Fc γ рецептор типа IIb, чиме се избегава супресија активације одређених класа имунских ефекторских ћелија на месту деловања. Комплексна интеракција различитих имунских ефекторских типова у туморском микроокружењу резултира елиминацијом туморских ћелија. Клинички развој катумаксомаба у интраперитонеалној примени обухватио је малигни асцитес, перитонеалну карциноматозу, као и карцином јајника и желуца [45]. Будући да везивање катумаксомаба за имунске и туморске ћелије покреће ослобађање проинфламаторних и цитотоксичних цитокина, синдром ослобађања цитокина спада међу најчешће нежељене реакције на терапију; већина манифестација, као што су грозница, мучнина, повраћање, успешно се контролише стандардном симптоматском терапијом. Пролазно повишење јетрених ензима и билирубина, као и пролазна лимфопенија, ретко су клинички значајни [45]

Блинатумомаб (*Blincyto*) први је bsAb који је FDA одобрила за интравенску примену у лечењу акутне лимфобластне леукемије (ALL). Дизајниран је као биспецифични конструктор са две специфичности, за CD3 и за CD19, коришћењем формата биспецифичног Т-ћелијског ангажера (*Bispecific T-cell Engager*, BiTE), који је развила компанија *Micromet* [46].

Дуплу везујућу активност блинатумомаба омогућавају два тандемски спојена једноланчана варијабилна фрагмента (scFv): CD19-специфичан scFv на N-терминалном крају, изведен из варијабилних домена мишјег моноклонског антитела, и анти-CD3 scFv на C-терминалном крају, изведен из мишјег mAb L2K. Молекул се производи у ћелијама јајника кинеског хрчка (CHO) стабилно трансфекованим вектором за конститутивну експресију BiTE протеина, који се секретује у негликозилованом облику у медијум ћелијске културе, у виду биолошки активних мономера и димера [47].

CD19 се експримира на готово свим стадијумима сазревања Б-ћелијске лозе, укључујући и лимфобласте код ALL, због чега представља поуздану терапијску мету. Његова експресија описана је и на леукемијским матичним ћелијама са капацитетом самообнављања, што сугерише потенцијал ове терапије да делује куративно, елиминишући и резидуалну популацију ћелија одговорну за релапс болести [48].

BiTE конструктори преусмеравају цитотоксичност Т-лимфоцита при суб-пикомоларним концентрацијама, изазивајући трајну активацију, пролиферацију и серијско

(поновљено) убијање циљних малигних ћелија *in vivo*. Формирање BiTE-посредоване имунолошке синапсе између циљне и ефекторске ћелије резултира лизом тумора и ослобађањем цитокина и хемокина који додатно појачавају активацију и пролиферацију Т-лимфоцита [46].

Клинички подаци показују да Т-лимфоцити ангажовани блинатумомабом ефикасно елиминишу резидуалну болест код пацијената са ALL испод прага детекције PCR методом (тзв. минимална резидуална болест), али и напреднију туморску масу у коштаном сржи и лимфним ткивима, укључујући пацијенте са релапсом/рефракторном ALL и високим степеном инфилтрације коштане сржи, као и пацијенте са не-Хочкиновим лимфомом (NHL) и захваћеношћу лимфних чворова. Ови налази представљају BiTE платформу као терапијски модалитет способан да делује на широк спектар стадијума болести, независно од анатомске локализације малигних ћелија, крви, коштане сржи, лимфних чворова, јетре или слезине [48].

1.3. Коњугати антитело-лек и коњугати антитело-радионуклид

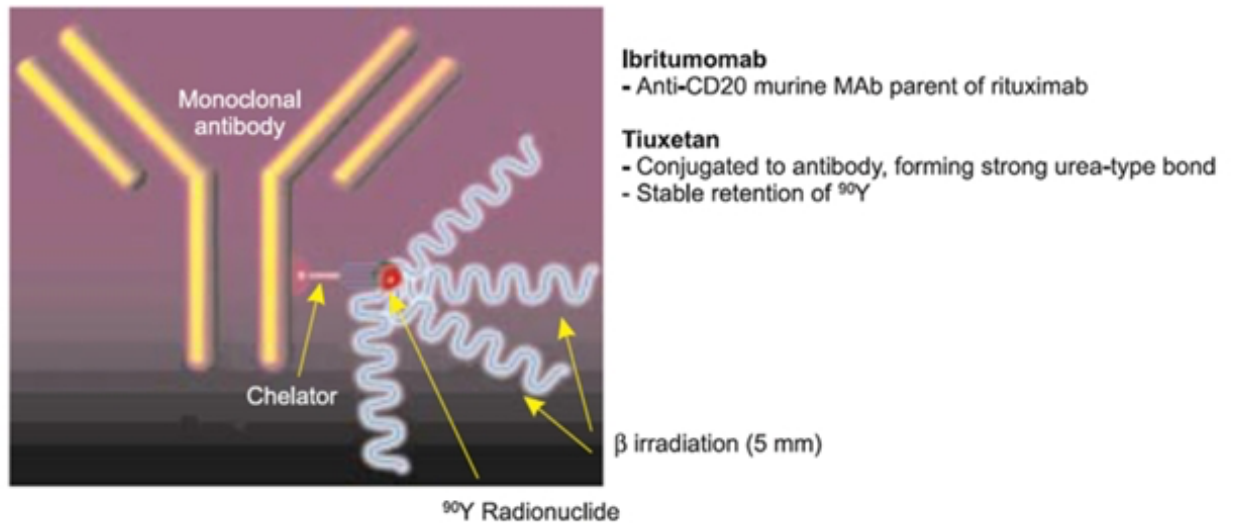
Коњугати антитело-лек и коњугати антитело-радионуклид представљају другу важну групу терапеутика заснованих на моноклонским антителима. Заједничко им је то што комбинују mAb специфично за туморски антиген са изотопом који емитује јонизујуће зрачење или са високопотентним цитотоксичним агенсом, чиме се постиже усмерено уништавање туморских ћелија уз релативну поштеду здравог ткива [40].

Радиоимунотерапија (РИТ) представља логичну терапијску стратегију за не-Хочкинов лимфом (NHL), с обзиром на то да је болест типично мултифокална и радиосензитивна. Њена предност у односу на терапију неконјугованим mAb лежи и у томе што не зависи искључиво од функционалног имунског система за елиминацију туморских ћелија, као и у постојању тзв. „ефекта унакрсне ватре“ (енгл. *cross-fire effect*): у зависности од коришћеног радионуклида, β -честице делују на удаљености од око 100 до 500 пречника ћелије, чиме зраче и суседне туморске ћелије које нису директно везале антитело. Клинички успех РИТ зависи од избора и антитела и радиоизотопа [49]. Тренутно је клинички регистрован радиоимунокоњугат за лечење NHL ^{90}Y -ибритумомаб тиуксетан (*Zevalin*). ^{131}I -тоситумомаб (*Bexxar*) је био регистрован, али је 2014. године повучен из употребе. Коњугат антитело-лек (ADC), с друге стране, представља биокоњугат сачињен од mAb специфичног за површински туморски антиген и високопотентног цитотоксичног агенса, повезаних цеппивим или нецеппивим линкером, овакав дизајн обезбеђује специфичност деловања уз очување здравог ткива. FDA је до 2017. године одобрила два оваква лека: брентуксимаб ведотин (*Adcetris*) и адо-трастузумаб емтанзин (*Kadcyla*) [40].

^{131}I -тоситумомаб је анти-CD20 мишје IgG2a моноклонско антитело обележено јодом-131. Примењује се превасходно код индолентног NHL ниског градуса и

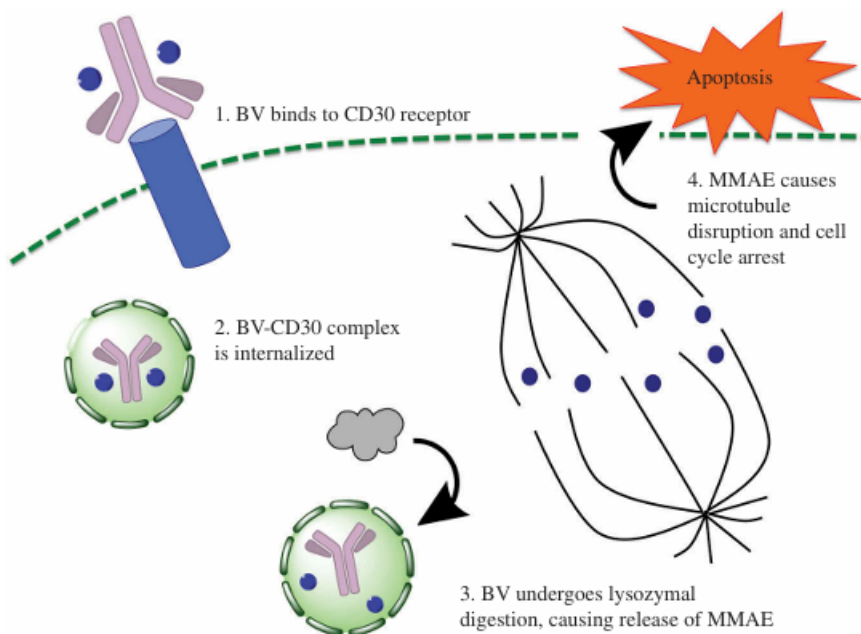
трансформисаног NHL, са доказаном ефикасношћу и у почетним и у унапредовалим стадијумима болести. Испитиван је као монотерапија, у комбинацији са хемотерапијом и као део кондиционарајућег режима пре аутологне трансплантације матичних ћелија, при чему подаци указују на значајну улогу овог агенса у лечењу пацијената са Б-ћелијским лимфомом. С обзиром на то да примена подразумева и необележени и радиоактивно обележени тоситумомаб, лечење захтева тимски приступ онколога и специјалисте нуклеарне медицине или радијационе онкологије. Код пацијената са нижим ризиком према Међународном прогностичком индексу (IPI), један циклус терапије може довести до трајне ремисије и код претходно нелечених пацијената са унапредовалим фоликуларним лимфомом (FL), као и код пацијената резистентних на претходну терапију (у просеку 3-4 претходне линије лечења). Нежељени ефекти обухватају цитопеније IV степена, ретке али потенцијално фаталне реакције преосетљивости, хипотиреоидизам, стварање НАМА и ризик од секундарног малигнитета. Ради смањења ризика од секундарног хипотиреоидизма, примењује се профилактички калијум-јодид пре и након терапије. Најозбиљнија токсичност јесте ризик од секундарног мијелодиспластичног синдрома (МДС) и акутне мијелоидне леукемије (AML); како су МДС и AML препознати као могуће компликације лечења NHL и независно од РИТ, остаје нејасно да ли је ова асоцијација узрочно везана за радиоимунотерапију или одражава дужи период праћења пацијената који живе дуже након претходне хемотерапије [50].

Ибритумомаб тиуксетан (Zevalin) представља конјугат анти-CD20 антитела ибритумомаба са изотопом који емитује β -зрачење, итријумом-90 (^{90}Y). Омогућава испоруку јонизујућег зрачења директно у туморско ткиво уз минимизирање токсичности за здраво ткиво и постизање трајних терапијских одговора. Индикуван је за лечење релапсне или рефракторне фоликуларне NHL ниског градуса, укључујући пацијенте резистентне на ритуксимаб, као и за консолидациону терапију код претходно нелечених пацијената са фоликуларним лимфомом који су постигли делимичан (PR) или потпун (CR) одговор на хемотерапију прве линије. Убрзано одобрење FDA добио је 2002. године, чиме је постао први одобрени РИТ агенс у САД за релапсни/рефракторни фоликуларни лимфом ниског градуса [51], а у септембру 2009. године одобрење је проширено на консолидациону терапију код претходно нелечених пацијената са одговором на хемотерапију прве линије. У поређењу са терапијом екстерним зрачењем (EBRT), РИТ ибритумомаб тиуксетаном показује високу укупну стопу одговора (ORR), како код претходно леченог релапсираног/рефракторног NHL, тако и у првој линији лечења фоликуларног лимфома. Најзначајнија токсичност је мијелосупресија, реверзибилна супресија коштане сржи, продужена и тешка цитопенија, уз инфузионе реакције, тешке кожане и мукокутане реакције, те ризик од секундарног МДС/AML. Терапија се безбедно спроводи амбулантно, при чему се, због ризика од продужене (>12 недеља) тешке цитопеније, не препоручује код пацијената са захваћеношћу коштане сржи лимфомом $\geq 25\%$ и/или већ ограниченом резервом коштане сржи [49].



Слика 4: Механизам деловања Ибритумомаб Тиукетана (бренд Зевалин). Слика преузета из рада [49]: D. Rizzieri. Zevalin(ibritumomab tiuxetan): After more than a decade of treatment experience, what have we learned?. Critical Reviews in Oncology/Hematology.105 (2016) 5-17 doi:10.1016/j.critrevonc.2016.07.008.

Брентуксимаб ведотин (*Adcetris*) је коњугат антителио-лек који комбинује анти-CD30 моноклонско антитело са монометилауристатином Е (ММАЕ), агенсом који инхибира полимеризацију микротубула. Испитиван је код више хематолошких малигнитета, укључујући Т-ћелијски и Хочкинов лимфом, системски анапластични крупноћелијски лимфом (sALCL), CD30-позитивни кожни Т-ћелијски лимфом (CTCL) и друге хистолошке типове периферног Т-ћелијског лимфома (PTCL). Дејство остварује селективним везивањем за CD30 на површини туморске ћелије, након чега следи интернализација коњугата, лизозомално цепање линкера и ослобађање MMAE, што доводи до заустављања ћелијског циклуса и апоптозе услед поремећаја функције микротубула. Најчешћи нежељени ефекти су периферна неуропатија (кумулативна и дозно-зависна), умор, цитопеније, инфузионе реакције и гастроинтестинални поремећаји (мучнина, повраћање, дијареја, констипација) [52].



Слика 5: Механизам деловања **Брентуксимаб ведотина** (Адцентрис). Слика преузета из рада [52]: Van der Weyden, C., Dickinson, M. et al. Brentuximab vedotin in T-cell lymphoma. Expert Review of Hematology. 2019 Jan;12(1):5-19.

Адо-трастузумаб емтанзин (*Kadcyla*, T-DM1) коњугат је трастузумаба са мертанзином (DM1), цитотоксичним дериватом мајтанзина, и представља прво одобрено anti-HER2 ADC. FDA га је 2013. године одобрила као монотерапију за узнапредовали HER2-позитиван рани карцином дојке након неoadјувантног лечења трастузумабом и таксаном (паклитаксел или доцетаксел), а 2019. године одобрење је проширено на пацијенте са резидуалном инвазивном болешћу након неoadјувантне терапије засноване на таксану и трастузумабу. Данас је индикован и као терапија друге линије код узнапредовалог HER2-позитивног карцинома дојке [53]. Везивање T-DM1 за HER2 рецептор покреће ендоцитозу комплекса HER2-T-DM1, након чега протеолитичка деградација антитела унутар лизозома ослобађа DM1, који инхибира полимеризацију микротубула и изазива ћелијску смрт [54]. Терапија показује повољан однос ефикасности и безбедности; најчешћи нежељени ефекти обухватају гастроинтестиналне тегобе, периферну неуропатију, смањење ејекционе фракције леве коморе (LVEF), тромбоцитопенију и повишење јетрених ензима, са потенцијалним ризиком од хепатотоксичности [55].

Фрагменти моноклонских антитела

Истраживање биодистрибуције, биодоступности, стабилности, безбедности, полуживота и биолошке активности интактних моноклонских антитела довело је до развоја нове класе терапеутика, **фрагмената антитела**. Реч је о мањим доменима изведеним из основне структуре имуноглобулина, чија се молекулска маса, у зависности од типа фрагмента, креће у распону од приближно 12-15 kDa (нпр. нанотела) до 110 kDa (F(ab')₂), наспрам 150 kDa колико износи маса интактног IgG молекула. Све док фрагмент носи бар један варијабилни домен присутан у Fab региону, он задржава способност препознавања и везивања циљног антигена родитељског mAb [56].

Фрагменти антитела превазилазе поједина ограничења интактних mAbs, попут нежељене Fc-посредоване активације имунских ефекторских механизма, велике молекулске масе која ограничава пенетрацију у ткиво, ниже термодинамичке стабилности и, у неким случајевима, недовољне ефикасности. Због мање величине, одликују се бољом пенетрацијом у ткиво и мањом имуногеношћу у односу на интактна антитела; такође, када се користе као циљни лиганди у другим конструктима, омогућавају већи капацитет „оптерећења“ и повољнију просторну оријентацију. С друге стране, одсуство Fc региона доноси и одређене недостатке, краћи полуживот у циркулацији, потребу за чешћим дозирањем и склоност ка агрегацији током процеса пречишћавања; ови недостаци могу се делимично превазићи стратегијама попут ПЕГилације (ковалентног везивања полиетилен-гликолских ланаца) [57].

Најчешћи типови фрагмената антитела су:

1. фрагмент који везује антиген (Fab), F(ab')₂,
2. једноланчани варијабилни фрагмент (scFv),
3. полу-антитело (моновалентни IgG),
4. дијантитело и
5. једнодоменско антитело (нанотело).

Могу се производити технологијом приказа фага у бактерији *E. coli*, ензимском дигестијом интактног антитела (пепсином или папаином) уз цепање дисулфидних веза, или директно рекомбинантном експресијом.

Fab, F(ab')₂ и Fab' фрагменти могу настати како разградњом интактног mAb, тако и директном рекомбинантном производњом, док фрагменти попут scFv, дијантитела и нанотела настају искључиво рекомбинантним технологијама експресије и протеинског инжењеринга. Fab' фрагменти разликују се од Fab фрагмената по присуству слободних тиолних група у зглобном региону и додатних аминокиселинских остатака на карбокси-

крају тешког ланца; спајањем два Fab' фрагмента дисулфидним мостовима настаје двовалентни F(ab')₂ фрагмент (100-110 kDa), који, због веће молекулске масе, дуже остаје у циркулацији од мањих фрагмената. Fab фрагменти представљају најстарију и клинички најуспешнију класу фрагмената антитела, већина тренутно одобрених фрагмената mAbs јесте управо у Fab облику. Будући да не садрже Fc регион, лишени су и ефекторских функција, и нежељене активности које та регија може посредовати; моновалентни су и садрже један лаки и један делимични (Fd) тешки ланац, са очуваним варијабилним и константним доменом [58]. Према прегледу из 2020. године, у првој половини те године клиничку примену уз одобрење FDA имала су четири Fab фрагмента: **абциксимаб** (*ReoPro*), **ранибизумаб** (*Lucentis*), **цертолизумаб пегол** (*Cimzia*) и **идаруцизумаб** (*Praxbind*) [59].

scFv (једноланчани варијабилни фрагмент) један је од најмањих фрагмената антитела (~25 kDa), сачињен од варијабилних домена тешког и лаког ланца међусобно повезаних флексибилним пептидним линкером (~15 аминокиселина), чија флексибилност омогућава исправно савијање и очување конформације везујућег места. scFv фрагменти задржавају специфичност везивања родитељског антитела, а мала молекулска маса им обезбеђује бољу пенетрацију у ткиво у односу на друге фрагменте. Према истом прегледу из 2020. године, два scFv-заснована конструкта имала су одобрење FDA: **блинатумомаб** (*Blinicyto*, бис-scFv формат, два scFv фрагмента спојена линкером) и **бролуцизумаб** (*Beovu*) [59].

Полу-антитела (моновалентни IgG) имају молекулску масу од око 75 kDa и састоје се од једног лаког и једног тешког ланца, носећи само један антиген-везујући домен. Услед редукције дисулфидних мостова у зглобном региону, ови фрагменти носе слободне тиолне групе у доњој половини тешког ланца. Захваљујући очуваном Fc региону, стабилнији су и дуже остају у циркулацији од других мањих фрагмената, а у поређењу са интактним IgG показују предност боље пенетрације у ткиво [60]

Дијантитела представљају напредни облик рекомбинантних фрагмената који комбинује малу молекулску масу, високу специфичност и двовалентност, због чега имају значајан потенцијал у развоју терапијских и дијагностичких платформи [61]. Слично scFv-у, дијантитело чине два варијабилна домена повезана пептидним линкером (~50 kDa), али краћим (5-8 аминокиселина) него код scFv-а, услед чега варијабилни домени тешког и лаког ланца унутар истог полипептидног ланца не могу интрамолекуларно да се упаре, већ се удружују међу два одвојена ланца, дајући функционално двовалентан молекул. У зависности од специфичности комбинованих scFv јединица, дијантитела могу бити моноспецифична или биспецифична.

Нанотела (V_{HH} домени, једнодоменска антитела) представљају најмање функционалне фрагменте антитела (~12-15 kDa) и нову генерацију молекула која комбинује малу величину, високу стабилност и изражену специфичност, што их чини атрактивним

алатом у биомедицини и биотехнологији. Потичу из антитела тешког ланца (HCAbs) породице *Camelidae* (нпр. лама, камила), задржавају способност везивања антигена карактеристичну за родитељски тешки ланац, али не носе лаки полипептидни ланац, варијабилни регион молекула сачињен је искључиво од једног домена тешког ланца. Захваљујући малој величини, нанотела имају предност боље пенетрације у ткиво, веће стабилности и веће растворљивости у односу на друге фрагменте [62]; хуманизована нанотела могу се производити у *E. coli* технологијом рекомбинантне ДНК. Према прегледу из 2020. године, FDA је одобрила једно нанотело, **капласизумаб** (*Cablivi*). Ово нанотело је хуманизовани, бивалентни, моноспецифични конструкт сачињен од два идентична једнодоменска фрагмента спојена кратким пептидним линкером [59].

Хуманизована и потпуно хумана mAbs деле значајно смањен имуногени потенцијал и својства слична ендогеном хуманом IgG, због чега их треба сматрати комплементарним, а не конкурентским технологијама, које су терапијска антитела учиниле доступнијим него икада раније. Према подацима објављеним 2014. године, до тог тренутка је регистровано 32 mAb доступна на тржишту САД и/или Европе, док се знатно већи број налазио у различитим фазама клиничког развоја [63].

2. Циљ рада

Циљ овог мастер рада јесте да, на основу критичке анализе одабране научне литературе, пружи детаљан, савремен и научно заснован преглед примене моноклонских антитела у терапији малигних болести. У раду су приказане основне карактеристике моноклонских антитела, односно структура, класификација и начини производње, као и њихов значај у имунотерапији и циљаном лечењу карцинома.

Посебна пажња посвећена је механизмима дејства различитих типова моноклонских антитела, њиховој способности специфичног препознавања туморских антигена, као и разликама између терапијских приступа заснованих на овим биолошким агенсима. Анализирана је досадашња клиничка примена моноклонских антитела код различитих типова карцинома, њихова терапијска ефикасност и безбедносни профил.

Посебан осврт дат је на предиктивне биомаркере (HER2 статус и његов новоуведени континуум, RAS/RAF статус, PD-L1 експресију, MSI-H/dMMR статус) који одређују избор пацијената за поједине терапије моноклонским антителима, укључујући и савремене приступе динамичком праћењу терапијског одговора и резистенције путем течне биопсије, чиме се рад директно надовезује на концепт персонализоване онкологије.

Поред тренутно одобрених терапијских опција, у раду су приказана и најновија достигнућа у овој области, молекули у фази претклиничких и клиничких испитивања, антитела усмерена ка новим терапијским метама, иновативне структурне платформе (биспецифична антитела, коњугати антитело-лек, CAR-T ћелијска терапија) које омогућавају прецизније циљање туморских ћелија, као и развој биосимилара као фактора који проширује доступност ових терапија. На основу доступних научних сазнања размотрени су и будући правци развоја моноклонских антитела у онкологији, са освртом на историјске примере неуспелих или обустављених развојних путева који потврђују значај клиничких испитивања.

3. Методологија рада

За потребе израде овог прегледног рада спроведена је претрага научне литературе у три базе података: PubMed, SCI-indeks и Kobson, у периоду од новембра 2025. године до маја 2026. године.

Претрага литературе у наведеним базама спроведена је коришћењем комбинације кључних речи „*Biopharmaceuticals*“, „*Monoclonal antibodies*“, „*Mouse antibodies*“, „*Chimeric antibodies*“, „*Humanized antibodies*“, „*Human antibodies*“ и „*Immunotherapy in oncology*“, у комбинацији са називом конкретног антитела или циљног молекула (нпр. „*rituximab*“, „*HER2*“, „*PD-1*“) када је то било потребно ради сужавања резултата на клинички релевантне студије. Сви укључујући и искључујући критеријуми приказани су у **Табели 1**.

Поред примарне претраге по кључним речима, спроведена је и циљана претрага уназад (*citation/reference tracking*), полазећи од референци кључних прегледних радова, ради проналажења примарних клиничких студија и новијих извора који нису били директно обухваћени почетним низом кључних речи. Одабир референци извршен је у два корака, прво на основу наслова и апстракта, а потом увидом у пун текст рада, при чему су предност имале студије: спроведене на људима, доступне у целости и тематски директно повезане са применом моноклонских антитела у онкологији, објављене у последњих десет година. Старији извори задржани су искључиво тамо где су од кључног значаја за разумевање историјата, класификације или основног механизма дејства антитела, што је експлицитно назначено на одговарајућим местима у тексту.

Студије засноване на експерименталним животињским моделима, ћелијским линијама или *in silico* приступима укључене су селективно, искључиво у деловима Дискусије посвећеним моноклонским антителима у претклиничкој фази развоја, односно биомаркерима и персонализованом избору терапије, где такав тип доказа представља неопходну допуну клиничких података.

Табела 2. Критеријуми укључивања и искључивања студија за преглед литературе

У овај мастер рад укључене су студије које су:	У овај мастер рад нису укључене студије које:
✓ објављене у последњих 10 година; ✓ садржајно одговарале теми интересовања (примена моноклонских антитела у терапији карцинома); ✓ доступне у целости (енгл. <i>full text</i>).	✗ објављене пре 2016. године ✗ и поред подударности са кључним речима, нису садржајно одговарале теми интересовања; ✗ биле доступне искључиво у облику сажетка (енгл. <i>abstract only</i>).

4. Преглед и дискусија о литератури и до сада добијеним резултатима у терапији карцинома употребом моноклонских антитела

Терапијска моноклонска антитела дизајнирана су тако да у различитим болестима, обнове, појачају, модификују или опонашају физиолошки напад имунског система на нежељене ћелије, попут туморских. Појединачни лек заснован на mAb може остваривати терапијски ефекат кроз више, често комплементарних механизма:

- обележавање (опсонизацију) туморских ћелија за уништење путем имунских ефекторских механизма;
- директно покретање лизе ћелијске мембране активацијом система комплемента;
- блокаду сигнала неопходних за раст и пролиферацију туморских ћелија;
- инхибицију ангиогенезе, односно раста нових крвних судова у тумору;
- блокаду инхибиторних молекула имунског система (тзв. *immune checkpoints*);
- директну индукцију апоптозе туморске ћелије;
- испоруку јонизујућег зрачења директно у туморско ткиво (радиоимунотерапија);
- испоруку цитотоксичног хемотерапеутика директно у туморску ћелију (коњугати антитело-лек);
- физичко приближавање туморске и имунске ефекторске ћелије помоћу биспецифичног антитела, при чему једно везујуће место везује туморски антиген, а друго активациони рецептор на имунској ћелији (нпр. CD3 на Т-лимфоциту), чиме се индукује усмерена цитотоксичност [64,65]

Четири основна механизма посредством којих терапијска моноклонска антитела остварују антитуморско дејство могу се сумирати на следећи начин:

(1) антитело специфично за површински туморски антиген покреће комплементом посредовану лизу циљне ћелије (CDC), Fc-рецептором посредовану фагоцитозу и/или ћелијску цитотоксичност зависну од антитела (ADCC) путем NK ћелија;

(2) антитело коњуговано са цитотоксичним леком или радиоизотопом (ADC, радиоимунокоњугат) омогућава циљану испоруку леково-носеће компоненте директно у туморску ћелију након интернализације;

(3) антитело специфично за рецептор фактора раста на површини туморске ћелије блокира везивање ендогеног лиганда и последичну активацију про-пролиферативне сигнализације;

(4) биспецифично антитело (*T-cell engager*), једним крајем везано за туморски антиген, а другим за CD3 молекула на Т-лимфоциту, физички приближава ефекторску и циљну ћелију и индукује директну, Т-ћелијску посредовану цитотоксичност независно од презентације антигена путем МНС молекула [66].

Сваки од ових механизма детаљно је илустрован на примерима конкретних одобрених лекова у наставку овог поглавља.

Доступност потпуно хуманих и хуманизованих mAbs, укључујући биспецифичне конструкте, значајно је унапредила терапијску ефикасност у онкологији, посебно у хематоонкологији, али и у лечењу инфламаторних и аутоимунских болести.

Стандардни терапијски приступ карциному и даље се углавном заснива на комбинацији хируршког лечења, хемиотерапије и радиотерапије. Моноклонска антитела, заједно са инхибиторима малих молекула (SMIs), представљају данас доминантне класе циљане терапије карцинома, при чему антитела одликује већа специфичност за циљни антиген у комбинацији са својственом биолошком (имунски посредованом) активношћу. За разлику од малих молекула, који лако дифундују кроз ћелијску мембрану, велика молекулска маса антитела ограничава њихову нежељену интраћелијску дифузију, што доприноси прецизнијем циљању екстрацелуларних или мембрански експонираних антигена и смањењу нежељених ефеката ван циљног ткива [64]

Развој инбредних сојева мишева и цитотоксичних тестова за детекцију алоантигена на површини ћелије омогућио је идентификацију антигена ћелијске диференцијације, што је довело до бољег разумевања разлика између нормалних и малигних ћелија. Технологија хибридома, коју су 1975. године описали *Georges Köhler* и *César Milstein*, представљала је прекретницу у производњи моноклонских антитела, а њену ширу примену додатно су унапредили аналитички алати попут проточне цитометрије са сортирањем ћелија активираних флуоресценцијом (FACS). Термин „хибридом“ предложио је Леонард Херценберг (*Leonard Herzenberg*) за ознаку хибридних ћелија насталих спајањем („имортализацијом“) мијеломских ћелија са Б-лимфоцитима који производе антитело специфично за антиген од интереса. Овом технологијом по први пут је омогућена континуирана производња моноклонских антитела дефинисане специфичности пореклом из имунизоване мишје слезине [21,67]

Ова прва генерација мишјих mAbs, међутим, показала се клинички ограничено корисном код онколошких пацијената, будући да убризгавање мишјег протеина код људи изазива стварање НАМА. Овај имунски одговор домаћина доводи до убрзане инактивације и елиминације терапијског антитела из циркулације, а тиме и до смањене ефикасности и ограничене могућности поновљене (вишеструке) примене код истог пацијента [68].

4.1.1. Химерна моноклонска антитета

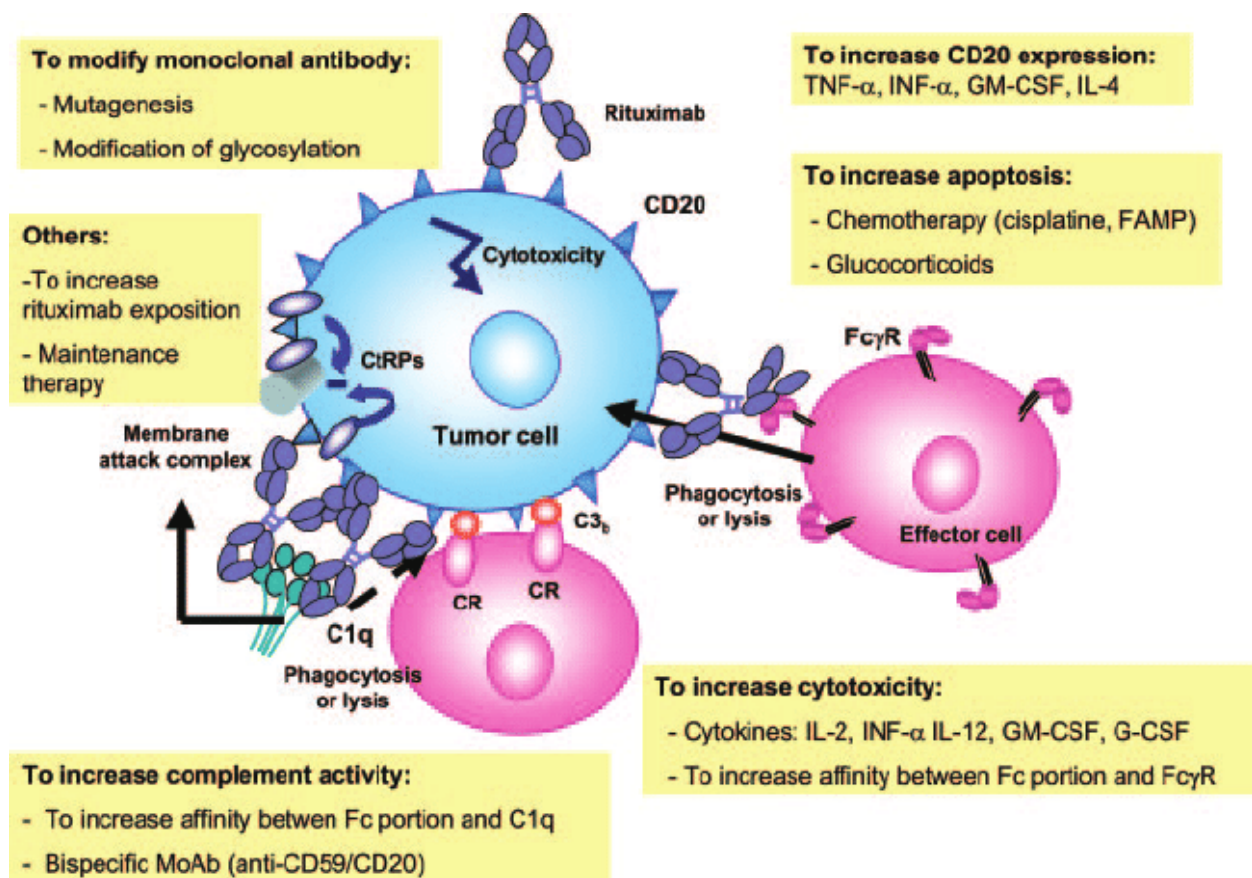
Ритуксимаб (*MabThera/Rituxan/Rituxan Hycela*; F. Hoffmann-La Roche Ltd.) представља химерно мишје-хумано анти-CD20 моноклонско антителио са утврђеном ефикасношћу и добро дефинисаним безбедносним профилем код пацијената са различитим типовима CD20-позитивних лимфоидних малигнитета, укључујући индолентне и агресивне облике не-Хочкиновог лимфома Б-ћелија (NHL). Ритуксимаб представља прво моноклонско антителио одобрено у САД (1997. године) за лечење карцинома. CD20 је трансмембрански антиген присутан на површини нормалних и малигних Б-лимфоцита; везивање ритуксимаба за овај антиген индукује лизу циљних ћелија и апоптозу хуманих лимфомских ћелијских линија, делимично посредовану инхибицијом ћелијске пролиферације и модулацијом унутарћелијске сигнализације зависне од фосфорилације тирозина [69]. Према Националном регистру лекова Републике Србије, ритуксимаб се на домаћем тржишту, поред оригинаторског препарата, налази и под брэндом биосимилара *Blitzima*.

Од свог првог одобрења пре готово три деценије, интравенски примењен ритуксимаб суштински је изменио терапијски приступ Б-ћелијским малигнитетима, постајући стандардна компонента протокола лечења фоликуларног лимфома, дифузног Б-крупноћелијског лимфома, хроничне лимфоцитне леукемије (CLL) и лимфома ћелија омотача (енгл. *mantle cell lymphoma*). Осим што продужава време до прогресије болести, ритуксимаб продужава и укупно преживљавање пацијената, а ефикасност је документована и код лимфома маргиналне зоне, као и код агресивнијих ентитета попут Буркитовог лимфома [70]. Клиничка употреба ритуксимаба поставила је основу за развој следеће генерације анти-CD20 антитета, **обинутузумаба, офатумумаба, велтузумаба и окрелизумаба**, међутим, захваљујући дугогодишњем искуству и обимним подацима о безбедности, ритуксимаб задржава значајно место у савременим терапијским протоколима. FDA одобрила је интравенски ритуксимаб 1997. године, а ЕМА 1998. године, у обе институције првобитно за лечење релапсираног/рефракторног индолентног NHL-а; одобрења за примену код CLL уследила су 2009. (FDA) и 2010. (ЕМА) године. Супкутана формулација ритуксимаба развијена је првенствено ради поједностављења примене и скраћења времена инфузије, чиме се смањује терет лечења по пацијента; ова формулација одобрена је и у ЕУ и у САД за исте индикације као интравенски облик [71].

Циљане Б-ћелије ритуксимаб елиминише путем најмање четири комплементарна механизма [72].

1. везивањем за CD20 на површини Б-ћелије активира се каскада комплемента, што доводи до формирања комплекса напада на мембрану (MAC) и директне лизе ћелије путем цитотоксичности зависне од комплемента (CDC);

2. Fc регион везаног ритуксимаба омогућава интеракцију са Fc γ рецептором III на природним ћелијама убицама (NK), покрећући ћелијску цитотоксичност зависну од антитела (ADCC);
3. истовремено препознавање Fc региона антитела и депонованих фрагмената комплемента од стране одговарајућих рецептора на макрофагима индукује фагоцитозу зависну од антитела (ADCP), уз додатни допринос ADCC-у;
4. унакрсно повезивање (енгл. *cross-linking*) молекула ритуксимаба и CD20 у липидном рафту ћелијске мембране активира интраћелијске сигналне путеве који укључују Src-породицу киназа и директно индукују апоптозу циљне ћелије.



Слика 6: Механизам деловања ритуксимаба. Слика преузета из рада[73]: Cartron G, Watier H et al. From the bench to the bedside: ways to improve rituximab efficacy. *Blood*, 2021 (print ISSN 0006-4971, online ISSN 1528-0020)

На основу више од две деценије постмаркетиншког праћења и преко четири милиона лечених пацијената, безбедносни профил ритуксимаба, било као монотерапија (индукциона и/или терапија одржавања) или у комбинацији са хемотерапијом код Б-ћелијских хематолошких малигнитета, сматра се веома добро окарактерисаним; током овог периода нису идентификовани нови или неочекивани безбедносни сигнали, што потврђује повољан

однос користи и ризика. Инфузионе реакције (IRR) представљају најчешће пријављену нежељену реакцију на лек (ADR), било код монотерапије, било код комбиноване терапије. Према студији Salles и сар. (2017), IRR било ког степена и типа, укључујући синдром ослобађања цитокина, регистроване су код око 77% пацијената, а тешке IRR (степен 3 или 4), укључујући бронхоспазам и хипотензију, код око 12% пацијената [72].

Други представник химерних mAbs у онкологији јесте **цетуксимаб** (*Erbix*), химерно мишје-хумано антитело одобрено за лечење карцинома сквамозних ћелија главе и врата (HNSCC) и метастатског колоректалног карцинома (mCRC); његова клиничка испитивања код неситноћелијског карцинома плућа (NSCLC), спроведена у претходној деценији, нису довела до регулаторног одобрења за ову индикацију [74].

Цетуксимаб припада подкласи IgG1 и, у поређењу са другим IgG изотиповима (IgG2, IgG3, IgG4), поседује најизраженији капацитет индукције ADCC-а. Механизам дејства заснива се на везивању за екстрацелуларни домен рецептора епидермалног фактора раста (EGFR), физиолошки експримираног на кератиноцитима базалног слоја епидермиса (са прогресивним губитком експресије при диференцијацији и миграцији ка површини), као и на себацеалном и екринском епителу, дендритским ћелијама и везивном ткиву; EGFR је, такође, значајно прекомерно експримиран на површини бројних туморских ћелија. Природни лиганди EGFR (EGF, TGF- α) везују се за екстрацелуларни домен рецептора, индукујући његову димеризацију и активацију унутарћелијске тирозин-киназне активности, што покреће низводне сигналне путеве, RAS/RAF/MEK/ERK, PI3K/Akt, JAK/STAT и PLC γ /PKC, одговорне за транскрипцију гена преживљавања и пролиферације, како у нормалним, тако и у туморским ћелијама [75].

Моноклонска антитела усмерена против EGFR-а, попут цетуксимаба, компетитивно инхибирају везивање природних лиганада за рецептор, чиме блокирају активацију RAS/ERK сигналног пута зависног од EGFR-тирозин-киназе. Цетуксимаб се везује за екстрацелуларни домен EGFR-а са већим афинитетом од ендогених лиганада, спречавајући лигандом-индуковану аутофосфорилацију рецептора и активацију низводне сигнализације. Његов антитуморски ефекат остварује се комбинацијом директне инхибиције преживљавања ћелије, индукције апоптозе и смањене продукције матриксних металопротеиназа и проангиогених фактора [76,77]

Цетуксимаб остаје, до данас, једини циљани лек одобрен специфично за терапију HNSCC, при чему је нарочито ефикасан у комбинацији са радиотерапијом (РТ) код локално унапредовале болести, односно у комбинацији са хемотерапијом код рекурентне/метастатске болести код пацијената неподобних за цисплатину. EGFR је прекомерно експримиран код приближно 90% пацијената са HNSCC, а виши ниво експресије углавном корелира са неповољнијим клиничким исходом. И поред укључености више механизма дејства, цетуксимаб постиже дуготрајан одговор само код мањег дела пацијената са HNSCC, што указује на потребу за бољом стратификацијом (тријажом) кандидата за ову терапију. Комбинација цетуксимаба и РТ код локално унапредовалог HNSCC није значајно погоршала уобичајену РТ-индуковану токсичност у пределу главе и врата (мукозитис, ксеростомију, дисфагију, губитак телесне масе, погоршање функционалног статуса); нежељени ефекти специфично повезани са цетуксимабом обухватају кожну токсичност (акнеиформни/папулопустуларни осип), инфузионе реакције, анемију, хипомагнезијемiju, ерозију рожњаче, трихомегалију трепавица, кератитис, пнеумонитис, као и промене ноктију (дисколорацију, паронихију, ономадезу) [78].

У терапији mCRC, стандардни приступ почетком 2000-их подразумевао је хируршко лечење, самостално или у комбинацији са зрачном и хемиотерапијом у адјувантном окружењу; увођење циљане терапије додатно је унапредило преживљавање пацијената. **Цетуксимаб** и **панитумумаб** представљају два FDA-одобрена анти-EGFR агенса која се примењују у монотерапији или у комбинацији са хемотерапијом код пацијената са mCRC који носе дивљи тип (енгл. *wild-type*) RAS гена. Иако цетуксимаб, као химерно антителио, носи већи ризик од имуногених реакција у поређењу са потпуно људским панитумумабом (IgG2 изотип), панитумумаб не индукује ADCC, за разлику од цетуксимаба (IgG1 изотип), што указује на разлику у механизму дејства ова два антитела упркос заједничкој молекулској мети. Клинички значајно, панитумумаб показује ефикасност након прогресије на цетуксимабу, и обрнуто, што додатно потврђује да, и поред везивања за исти (III) домен EGFR-а, механизми дејства ова два лека нису идентични; у директном поређењу (студија ASPECCT, фаза III), оба агенса показала су упоредиво укупно преживљавање код пацијената са RAS дивљег типа mCRC-а [79].

У лечењу NSCLC, цетуксимаб није ушао у рутинску клиничку праксу упркос статистички значајним резултатима фазе III испитивања, будући да је постигнута клиничка корист маргинална у односу на додатну токсичност у неселектованим популацијама пацијената [80]. FDA је 2004. године одобрила примену цетуксимаба у комбинацији са иринотеканом за лечење mCRC резистентног на иринотекан-базирану хемотерапију, као и у монотерапији код пацијената нетолерантних на иринотекан [81].

4.1.2. Хуманизована моноклонска антитела

Поред антитела усмерених против рецептора фактора раста и ангиогених фактора, значајну подгрупу хуманизованих и потпуно хуманих терапијских mAbs чине и инхибитори имунолошких контролних тачака (*checkpoint inhibitors*), усмерени против CTLA-4 (ипилимумаб), PD-1 (ниволумаб, пембролизумаб, цемиплимаб) или PD-L1 (атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб), детаљно описани у наставку овог поглавља [82].

Бевацизумаб (*Avastin*) је хуманизовано анти-VEGF-A моноклонско антителио изотипа IgG1. Уведен у клиничку праксу пре више од петнаест година као једна од првих циљаних терапија и први одобрени инхибитор ангиогенезе, бевацизумаб је означио почетак нове терапијске класе у онкологији и остаје најшире окарактерисан анти-ангиогени лек. Првобитно одобрен за лечење mCRC у комбинацији са хемотерапијом, спектар индикација данас укључује метастатски карцином дојке, NSCLC, глиобластом, карцином бубрежних ћелија (RCC), карцином јажника и карцином грлића материце [83].

Малигне ћелије мењају своје микроокружење лучењем екстрацелуларних сигнала који индукују туморску ангиогенезу, стимулишу пролиферацију туморских ћелија и промовишу имунску толеранцију, олакшавајући избегавање надзора имунског система. Новија истраживања указују на то да VEGF/VEGF-A сигнализација, поред проангиогеног дејства, има и додатну, од ангиогенезе независну улогу у прогресији тумора, због чега се циљање VEGF/VEGFR осовине сматра приступом који може појачати антитуморски имунитет, нарочито у комбинацији с другим облицима имунотерапије [83].

Бевацизумаб везује све циркулишуће, растворљиве изоформе VEGF-A, спречавајући његову интеракцију с VEGFR рецепторима и, тиме, активацију сигналних путева одговорних за неоваскуларизацију. Претклиничке (*in vivo*) студије показале су да

бевацизумаб инхибира раст нових крвних судова, индукује регресију новоформиране васкулатуре и „нормализује“ преостале крвне судове, олакшавајући испоруку цитотоксичне хемотерапије до тумора, уз одређени директни ефекат и на саме туморске ћелије. Повишена интратуморска експресија VEGF-A повезана је с неповољнијом прогнозом и агресивнијим током болести код више типова солидних тумора, укључујући mCRC [84], NSCLC [85], метастатски карцином дојке [86,87], мултиформни глиобластом (GBM) [88] и карцином јајника [89], док је код RCC, карцинома препознатог по израженој васкуларизацији, ова асоцијација додатно појачана дисрегулацијом фактора индукованог хипоксијом (HIF), што доводи до нарочито високог нивоа експресије VEGF-a [83].

Безбедносни профил бевацизумаба углавном произлази из искуства стеченог применом у комбинацији са стандардним хемотерапијским режимима код више узнапредовалих малигнитета. С обзиром на његов фармакокинетички профил и механизам дејства, клинички значајне интеракције између бевацизумаба и хемотерапије (у било ком смеру) нису очекиване. Најчешћи нежељени ефекти обухватају хипертензију, умор/астенију, дијареју и абдоминални бол; описана је и протеинурија, са највећом инциденцом код карцинома бубрега, чија тежина може варирати од асимптоматске до нефротског синдрома, због чега се препоручује редовно праћење функције бубрега. Најозбиљнији нежељени догађаји обухватају гастроинтестиналне перфорације, крварење и артеријску тромбоемболију; крварења специфична за поједине индикације укључују плућно крварење/хемоптизу код NSCLC, ређе гастроинтестинално крварење код mCRC, те крварење у централном нервном систему код пацијената са мождани метастазама [91,92].

Код карцинома јајника, добијање бевацизумаба уз хемотерапију у првој линији лечења (студије GOG-0218 и ICON7) и код платина-сензитивног (студија OCEANS: медијана PFS 12,4 наспрам 8,4 месеци, HR 0,48) и платина-резистентног рецидива (студија AURELIA: медијана PFS 6,7 наспрам 3,4 месеци, HR 0,48) значајно продужава преживљавање без прогресије болести, иако у наведеним студијама није постигнута статистички значајна разлика у укупном преживљавању [93]. Комбинација бевацизумаба са инхибиторима PARP ензима (студија PAOLA-1) додатно је продужила медијану PFS у првој линији лечења, нарочито код тумора са дефицитом хомологне рекомбинације и мутацијом BRCA гена (37,2 наспрам 17,7 месеци) [94].

Трастузумаб (*Herceptin*) хуманизовано је моноклонско антитело (IgG1 капа) усмерено против IV субдомена екстрацелуларног дела HER2 рецептора, тренутно одобрено за лечење карцинома дојке и метастатских аденокарцинома желуца/гастроезофагеалног споја са прекомерном експресијом HER2 [95,96].

Према актуелним подацима, дванаестомесечна адјувантна терапија трастузумабом остаје стандард лечења жена са HER2-позитивним карциномом дојке које примају хемотерапију у комбинацији с трастузумабом; све већи број пацијенткиња, међутим, лечи се у неoadјувантном окружењу двоструком HER2-блокадом (истовремена инхибиција HER2 и HER3) применом трастузумаба и пертузумаба у комбинацији са хемотерапијом [97]. Трастузумаб и пертузумаб делују комплементарним механизмима: трастузумаб инхибира HER2 хомодимеризацију, док пертузумаб спречава хетеродимеризацију HER2 с другим члановима HER породице, првенствено с HER3. Оба антитела инхибирају низводну HER2 сигнализацију, индукују ADCC и побољшавају укупно преживљавање и преживљавање без прогресије болести, како код раног, тако и код метастатског HER2-позитивног карцинома дојке. FDA је трастузумаб одобрила 1998. године за рани и

метастатски HER2-позитиван карцином дојке, а пертузумаб 2013. године, у комбинацији с трастузумабом и хемотерапијом [98].

HER2 је физиолошки експримиран на ниском нивоу на површини здравих ћелија, али је прекомерно изражен код приближно 20% карцинома дојке и 20% аденокарцинома желуца/гастроэзофагеалног споја, а у мањем степену и код других малигнитета, карцинома мокраћне бешике, ендометријума, плућа, грлића материце, дебелог црева, глиобластома, тумора главе и врата, јетре, јајника, панкреаса и пљувачних жлезда [99]. Прекомерна експресија HER2 повећава учесталост његове димеризације с другим члановима HER породице, покрећући низводну сигнализацију одговорну за ћелијску пролиферацију, ангиогенезу и, коначно, малигни раст. Везивањем за HER2, трастузумаб промовише интернализацију и деградацију рецептора, обележава HER2-позитивне ћелије за имунски посредовано уништење путем ADCC-а и спречава формирање конститутивно активног, лигандом-независног облика рецептора. Нето ефекат ових механизма јесте заустављање ћелијског циклуса, супресија пролиферације и повећана апоптоза туморских ћелија; клинички најзначајнији нежељени ефекат трастузумаба јесте кардиотоксичност (смањење LVEF) [100].

Експериментална, неoadјувантна примена трастузумаба, самостално или у комбинацији с другим терапијама, испитивана је и код HER2-позитивног уротелног карцинома, узнапредовалог NSCLC, ректалног карцинома и метастатског карцинома сабирних каналића бубрега. Неoadјувантна терапија примењује се пре, а адјувантна након примарног (најчешће хируршког) лечења, обично с циљем смањења волумена тумора и проширења хируршких опција [101,102,103].

Код резистенције на трастузумаб, на основу претклиничких модела предложено је више терапијских стратегија: комбиновање трастузумаба са инхибиторима малих молекула или другим mAb, дизајн оптимизованих малих пептидних лиганада, развој биспецифичних mAb која истовремено циљају више антигена, те развој коњугата антитело-лек (ADC) и имунотоксина, код којих су антитело или његов фрагмент хемијски повезани са потентним цитотоксином (пример: трастузумаб дерукстекан, детаљније описан у наставку). Већина савремених стратегија превазилажења резистенције заснива се на истовременом циљању HER2 и других учесника узводне сигнализације, нпр. циљање HER3 ради спречавања лигандом-индуковане HER2/HER3 хетеродимеризације и последичне активације HER3 [104].

Трастузумаб дерукстекан (*Enhertu*) представља пример ADC-а усмереног против HER2, у клиничком развоју за HER2-позитивне солидне туморе (карцином дојке, желуца, колоректални карцином, NSCLC); развили су га заједнички Daiichi Sankyo и AstraZeneca. FDA га је одобрила 20. децембра 2019. године, у оквиру убрзаног поступка одобравања, за одрасле пацијенте с нересектабилним или метастатским HER2-позитивним карциномом дојке који су претходно примили два или више режима анти-HER2 терапије у метастатском окружењу. Директно поређење трастузумаб дерукстекана и трастузумаб емтанзина у другој линији лечења (студија DESTINY-Breast03) показало је изразиту супериорност T-DXd, са медијаном PFS од 28,8 наспрам 6,8 месеци (HR 0,33) и значајним побољшањем укупног преживљавања (HR 0,64) [177]. Ефикасност T-DXd потврђена је и код HER2-low популације (студија DESTINY-Breast04), где је медијана PFS износила 9,9 наспрам 5,1 месеци у односу на терапију по избору лекара (HR 0,50) [105]. Молекул чини хуманизовано анти-HER2 IgG1 антитело идентичне аминокиселинске секвенце као трастузумаб, ковалентно повезано, преко на тетрапептиду заснованог, цепивог линкера, са корисним оптерећењем DXd,

дериватом ексатекана, инхибитором топоизомеразе I. Након везивања за HER2 на површини туморске ћелије, конјугат се интернализује, линкер се лизозомално цепа, а ослобођени DXd, молекул високе мембранске пропустљивости, инхибира комплекс топоизомеразе I-ДНК, изазивајући заустављање ћелијског циклуса и апоптозу, укључујући и извесно дејство на суседне, HER2-негативне ћелије (енгл. „bystander effect“). Захваљујући високом, хомогеном односу лека и антитела (енгл. *drug-to-antibody ratio*), трастузумаб дерукстекан постиже виши терапијски индекс у односу на старије ADC-е попут адотрастузумаб емтанзина. Најчешћи нежељени ефекти обухватају мучнину, умор, повраћање, алопецију, констипацију, смањен апетит, анемију, неутропенију, дијареју, леукопенију, кашаљ и тромбоцитопенију; клинички најзначајнија специфична токсичност јесте интерстицијска болест плућа/пнеумонитис, док је ризик од кардиотоксичности нижи у поређењу са монотерапијом трастузумабом [95].

Пертузумаб (*Perjeta*; Genentech), друго анти-HER2 антитело, одобрен је у комбинацији с трастузумабом и доцетакселом за прву линију лечења HER2-позитивног метастатског карцинома дојке, као и за неoadјувантно лечење HER2-позитивног, локално узнапредовалог, инфламаторног или раног стадијума карцинома дојке. За разлику од трастузумаба, пертузумаб се везује за екстрацелуларни домен II HER2 рецептора, спречавајући хетеродимеризацију HER2/HER3. Одобрење за употребу пертузумаб је добио 2013. године, на основу резултата рандомизоване, дупло следе, мултицентричне студије фазе III CLEOPATRA, која је показала статистички значајну и клинички релевантну корист додатка пертузумаба стандардном режиму (трастузумаб плус доцетаксел). Кључна студија из 2005. године показала је да комбинација трастузумаба и доцетаксела значајно продужава укупно преживљавање у HER2-позитивном метастатском карциному дојке у односу на самостални доцетаксел (медијана OS 31,2 наспрам 22,7 месеци; апсолутна разлика 8,5 месеци) [106]. Иако су пацијенти лечени пертузумабом чешће пријављивали дијареју и фебрилну неутропенију, учесталост кардијалних нежељених догађаја била је нижа. Пертузумаб је накнадно одобрен и за неoadјувантну примену, док се његова употреба у чисто адјувантном окружењу и даље испитује [107].

Пембролизумаб (*Keytruda*) хуманизовано је моноклонско IgG4-капа антитело усмерено против PD-1, чије је дејство интензивно испитивано код бројних солидних и хематолошких малигнитета. Према прегледном раду Kwok и сар. (2016), пембролизумаб је у клиничким студијама тестиран код дванаест категорија малигнитета, карцинома мокраћне бешике, дојке, колоректалног карцинома, једњака, желуца, тумора главе и врата, хематолошких малигнитета, плућа, меланома, карцинома јајника, педијатријских малигнитета и других солидних тумора. FDA је, до сада, одобрила пембролизумаб за преко 15 различитих онколошких индикација, укључујући и две тзв. „ткивно-агностичке“ индикације дефинисане присуством специфичног биомаркера (нпр. висока микросателитска нестабилност, независно од примарне локализације тумора) [108].

Везивање пембролизумаба за PD-1 не укључује Fc-рецепторе нити активира комплемент, због чега је антитело лишено директне цитотоксичне активности, механизам дејства заснива се искључиво на блокади инхибиторног PD-1/PD-L1(2) сигнала и последичном „ослобађању“ антитуморског Т-ћелијског одговора. Пембролизумаб је показао активност код узнапредовалог меланома резистентног на хемотерапију, BRAF/MEK инхибиторе и ипилимумаб; FDA га је одобрила у септембру 2014. године за нересектабилни/метастатски меланом, а одобрење је у децембру 2015. проширено на прву линију лечења ове индикације. Значајна активност пембролизумаба показана је и код

NSCLC резистентног на конвенционалну хемотерапију, при чему је одобрење за PD-L1-позитиван, платина-рефракторни метастатски NSCLC добијено у октобру 2015. године; код тумора са EGFR или ALK генским аберацијама, примена пембролизумаба препоручује се тек након исцрпљивања циљаних терапија специфичних за ове мутације. Нежељене реакције, типичне за checkpoint-инхибиторе, обухватају широк спектар имунски посредованих поремећаја: гастроинтестиналне (колитис, дијареја), хепатичне (хепатитис), панкреатичне (панкреатитис), неуролошке (полинеуропатија, миастенија гравис), респираторне (пнеумонитис) и ендокрине манифестације, поред опште токсичности (умор, осип) [109].

4.1.3. Хумана моноклонска антитела

Панитумумаб (*Vectibix*), прво потпуно хумано моноклонско антитело изотипа IgG2 одобрено за онколошку примену, показало се ефикасним у лечењу солидних тумора који експримирају рецептор епидермалног фактора раста (EGFR/HER1), молекул чија прекомерна експресија доприноси развоју и прогресији карцинома код и до 75% пацијената са колоректалним карциномом. EGFR припада подфамилији рецепторских тирозин-киназа типа I, заједно с HER2, HER3 и HER4 [110,111].

FDA је панитумумаб по први пут одобрила у септембру 2006. године за лечење mCRC са EGFR експресијом и прогресијом болести упркос претходној хемотерапији (флуоропиримидин, оксалиплатина, иринотекан); Европска агенција за лекове одобрење је дала 2007, а Health Canada 2008. године, за рефракторни mCRC са дивљим типом KRAS гена. Панитумумаб представља прво моноклонско антитело код кога је KRAS статус коришћен као предиктивни биомаркер терапијског одговора [112].

Као потпуно хумано антитело, панитумумаб се може примењивати без премедикације, уз ниску учесталост инфузионих реакција. Добијен је технологијом *XenoMouse*, где су ендогени мишји имуноглобулински гени замењени хуманим, а конструисани трансгени мишеви потом имунизовани ћелијама с прекомерном EGFR експресијом ради генерисања потпуно хуманих анти-EGFR клонова, од којих је селектован панитумумаб. Антитело се везује с високим афинитетом за домен III екстрацелуларног дела EGFR-а, инхибирајући лигандом-индуковану димеризацију и аутофосфорилацију рецептора, чиме блокира активацију низводних сигналних путева [113].

У лечењу mCRC, цетуксимаб и панитумумаб постижу упоредив клинички ефекат (објективна стопа одговора од око 10% у монотерапији код EGFR-позитивног mCRC). Нежељене реакције, осип, трихомегалија, хипомагнезијемја с пратећом хипокалцемијом, плућне компликације и инфузионе реакције, јављају се ређе код панитумумаба него код цетуксимаба; према студији Коррег (2010), реакције преосетљивости описане су код 3-4% пацијената лечених панитумумабом, наспрам и до 22% код цетуксимаба [38].

Ниволумаб (*Opdivo*) генетски је модификовано, потпуно хумано IgG4 моноклонско антитело усмерено против PD-1 рецептора, које блокира његову интеракцију с лигандима PD-L1 и PD-L2. Блокадом PD-1, ниволумаб уклања инхибицију Т-ћелијског антитуморског одговора посредовану овом осовином, што представља основу за један од најобимнијих клиничких развојних програма у имуноонкологији [114]. Ниволумаб је у Јапану одобрен у јулу 2014. године за нересектабилни меланом, а FDA одобрење је уследило у децембру 2014. за пацијенте с нересектабилним/метастатским меланомом и прогресијом болести након ипилимумаба (и BRAF инхибитора, уколико је присутна BRAF V600 мутација). Од тада, спектар одобрених индикација проширен је на узнапредовали меланом [115,116], NSCLC [117,118], RCC [119], класични Хочкинов лимфом [120], HNSCC [121], карцином желуца/гастроезофагеалног споја [122], уротелни карцином, малигни плеурални мезотелиом, колоректални карцином и хепатоцелуларни карцином; ниволумаб се такође активно испитује код карцинома мокраћне бешике, дојке, глиобластома, хематолошких малигнитета и карцинома панкреаса, укључујући и студије комбиноване примене са туморским вакцинама [114].

PD-L1/PD-L2 могу бити експримирани и на антиген-презентујућим ћелијама и на туморским (или другим) ћелијама туморског микроокружења; везивање за PD-1 рецептор на Т-лимфоцитима инхибира њихову пролиферацију и секрецију цитокина. Ниволумаб блокадом ове осовине обнавља функционалну активност антитуморских Т-лимфоцита. Молекула се производи у ћелијској култури CHO ћелија и пречишћава стандардним хроматографским и филтрационим поступцима; клон је добијен имунизацијом трансгених мишева (носилаца хуманог имуноглобулинског локуса) рекомбинантним хуманим PD-1 протеином и PD-1-Fc фузионим конструктом. Нежељене реакције на терапију укључују мучнину, губитак апетита, дијареју, осип, лимфопенију, хипофосфатемију, реакције преосетљивости, тиреоидну дисфункцију (хипо- или хипертиреозидизам), пнеумонитис и оштећење бубрежне функције; безбедносни профил ниволумаба сматра се повољнијим у поређењу и са класичном цитотоксичном хемотерапијом и са ипилимумабом [123,124].

Ипилимумаб и **тремелиумаб** представљају два потпуно хумана моноклонска антитела усмерена против цитотоксичног Т-лимфоцитног антигена 4 (CTLA-4).

Ипилимумаб је потпуно хумано IgG1-капа антитело против CTLA-4, инхибиторног молекула експримираног на активираним Т-лимфоцитима и регулаторним Т-супресорским ћелијама. Блокадом CTLA-4, ипилимумаб укида његов инхибиторни сигнал и појачава активацију Т-ћелија, доводећи до појачаног антитуморског имунског одговора [125]. FDA је ипилимумаб (*Yervoy*) одобрила у марту 2011. године као монотерапију за узнапредовали (нересектабилни/метастатски) меланом, независно од претходне терапије. Према прегледу Graziani и сар. (2012), ипилимумаб је показао клинички ефекат и код NSCLC, карцинома простате, рефракторног Б-ћелијског лимфома и уротелног карцинома, док ефекат није потврђен код локално-узнапредовалог/метастатског карцинома панкреаса. Данас су, поред монотерапије меланома, одобрене и комбиноване индикације ипилимумаба с ниволумабом

код RCC, dMMR/MSI-H mCRC-a након прогресије на стандардној хемотерапији, HCC-a (после сорафениба), као и у првој линији лечења метастатског NSCLC-a, малигног мезотелиома и карцинома једњака [126]. Кључна студија Hodi и сар. (2010) представљала је основ регулаторног одобрења ипилимумаба за нересектабилни/метастатски меланом. За разлику од одговора на цитотоксичну хемотерапију, одговор тумора на ипилимумаб често је одложен, али трајан, при чему пацијенти могу постићи дугорочну корист за преживљавање упркос иницијалном (привидном) расту тумора, феномен који одражава инфилтрацију тумора цитотоксичним Т-лимфоцитима и инфламаторним ћелијама, а не стварну прогресију болести [127]. Стандардни критеријуми процене одговора на терапију (RECIST, mWHO) стога могу потценити клиничку корист имунотерапије, што је довело до развоја алтернативних, имунски-повезаних критеријума одговора (irRC), према којима се потпуни (irCR) и делимични (irPR) одговор, као и прогресија болести (irPD), потврђују тек накнадном евалуацијом у размаку од најмање 4 недеље, при чему се појава нових лезија уз смањење постојећих не сматра аутоматски прогресијом болести [128]

Најзначајније ограничење ипилимумаба јесу имунски посредовани нежељени ефекти (irAEs), укључујући потенцијално животно угрожавајуће реакције преосетљивости које захтевају хитну имуносупресивну терапију (најчешће кортикостероидима), осип, пруритус, колитис, дијареју, витилиго, ендокринопатије (хипофизне, тиреоидне, надбубрежне), хепатитис и увеитис [125]. Даљи развој ипилимумаба усмерен је ка неoadјувантној/адјувантној примени код меланома високог ризика, као и ка другим рефракторним и узнапредовалим солидним туморима, самостално или у комбинацији с другим имунотерапеутицима и циљаним агенсима [129].

Комбинована блокада PD-1 и CTLA-4 осовине показала је синергистички ефекат код метастатског меланома: студија CheckMate 067 (фаза III) показала је медијану укупног преживљавања од 72,1 месеци за комбинацију ниволумаба и ипилимумаба, наспрам 36,9 месеци за самостални ниволумаб и 19,9 месеци за самостални ипилимумаб, уз десетогодишњу стопу преживљавања од 52% за комбинацију [128]. Ова комбинација, међутим, носи значајно повећан ризик од имунски посредоване токсичности, са учесталостју прекида терапије услед нежељених ефеката од 38%, због чега се код тумора са PD-L1 експресијом $\geq 5\%$ — где комбинована терапија не показује додатну корист у односу на монотерапију ниволумабом — предност даје монотерапији ради повољнијег безбедносног профила [130].

Тремелимумаб представља потпуно хумано моноклонско антитело изотипа IgG2, такође усмерено против CTLA-4; блокада ове осовине последично повећава секрецију IL-2 и других цитокина активираних Т-лимфоцита, чиме се додатно појачава антитуморски имунски одговор. Развила га је компанија *Pfizer*, применом *XenoMouse* технологије коју је обезбедила компанија *Abgenix* (данас у саставу *Amgen*) [131]. Према доступним подацима, тремелимумаб је у различитим фазама клиничког развоја испитиван код карцинома дојке, мокраћне бешике, јетре, панкреаса, простате, бубрега, колоректалног карцинома,

гастроинтестиналних и урогениталних тумора, меланома и NSCLC-a [132]. Према Graziani и сар. (2012), тремелидумаб је испитиван у комбинацији с краткотрајном андрогеном деприваторном терапијом код пацијената са карциномом простате стадијума D0, с CD40-агонистичким моноклонским антителом CP-870,893 код метастатског меланома, те као монотерапија код узнапредовалог хепатоцелуларног карцинома и рефракторног mCRC. Према Keam (2023), FDA је тремелидумаб одобрила у октобру 2022. године у комбинацији с дурвалумабом за нересектабилни HCC, а у новембру 2022. у комбинацији с дурвалумабом и хемотерапијом на бази платине за метастатски NSCLC без сензибилизирајућих EGFR мутација или ALK преуређења; Комитет за лекове за хуману употребу (CHMP) Европске агенције за лекове дао је позитивно мишљење за исту HCC индикацију у децембру 2022. године [133]. Употреба анти-CTLA-4 антитела, укључујући тремелидумаб, повезана је са значајним имунски посредованим нежељеним ефектима, ентероколитисом, перфорацијом црева, хепатитисом, дерматитисом, неуропатијом, ендокринопатијама, хематолошким поремећајима (анемија, тромбоцитопенија, неутропенија), нефритисом, панкреатитисом и пнеумонитисом, од којих поједини могу бити тешки или фатални, али су углавном контролабилни адекватним лечењем. Развој анти-CTLA-4 антитела отворио је пут ширем развоју инхибитора имунолошких контролних тачака; тремелидумаб, као једно од два прва анти-CTLA-4 антитела, показао је обећавајућу активност код метастатског меланома, док код мезотелиома, аденокарцинома желуца/једњака и NSCLC-a, самостално или у комбинацији, постиже скромнију антинеопластичну активност, с дугорочним стопама преживљавања реда величине 5-10% [134].

4.2. Биспецифична антитела

Савремени трендови и нове стратегије у развоју терапијских моноклонских антитела

Од Милштајновог и Келеровог открића, моноклонска антитела постала су незаобилазна терапијска опција за широк спектар малигних болести у савременој клиничкој пракси, с механизмима дејства који обухватају регулацију функције остеокласта, испоруку цитотоксичних агенаса директно у туморске ћелије и блокаду онкогених сигналних путева и неоангиогенезе. Већина до сада одобрених mAbs циља ограничен репертоар туморских рецептора, HER2, EGFR, VEGF/VEGFR, CTLA-4 и осовину PD-1/PD-L1, док мањи број циља GD2 и RANKL [135]. Клинички подаци показују да примена mAbs, самостално или у комбинацији са стандардном хемотерапијом, побољшава преживљавање пацијената код бројних малигнитета, али указују и на простор за унапређење терапијског ефекта, на пример, кроз проширење спектра валидованих предиктивних биомаркера (што је описано у поглављу 4.5.) и кроз развој нових структурних платформи.

Поред већ клинички валидоване PD-1/PD-L1 и CTLA-4 осовине, предмет активног клиничког испитивања представља и блокада додатних инхибиторних молекула на Т-лимфоцитима, LAG-3, TIGIT и TIM-3, самостално или у комбинацији са постојећим checkpoint инхибиторима, са циљем превазилажења примарне или стечене резистенције на PD-1/CTLA-4 блокаду. Комбинована блокада више инхибиторних осовина истовремено, међутим, носи и повећан ризик од имунски посредованих нежељених ефеката и појаве аутоимуних реакција, што намеће потребу за пажљивом проценом односа користи и ризика при дизајну оваквих комбинованих терапијских протокола [136].

Код карцинома дојке и других солидних тумора, PD-L1 статус се најчешће процењује применом тзв. комбинованог позитивног скорa (*Combined Positive Score, CPS*) — броја PD-L1-позитивних ћелија (туморских ћелија, лимфоцита и макрофага) подељеног укупним бројем виталних туморских ћелија, помноженог са 100; вредност $CPS \geq 10$ стандардно се користи као праг за позитиван PD-L1 статус који условљава примену checkpoint инхибитора у комбинацији са хемиотерапијом [137].

Историјски примери развојних путева с мешовитим исходом

Развојни пут терапеутских mAbs није линеаран, а поједини илустративани примери то добро показују.

Оларатумаб, потпуно хумано IgG1 антитело усмерено против рецептора алфа тромбоцитног фактора раста (PDGFR α), добио је убрзано одобрење FDA у октобру 2016. године за примену у комбинацији с доксорубицином код одраслих пацијената са саркомом меких ткива, на основу охрабрујућих резултата фазе Ib/II студије (медијана укупног преживљавања 26,5 наспрам 14,7 месеци у корист комбинације). Потврдна фаза III студија ANNOUNCE (509 пацијената), чији су резултати објављени у јануару 2019. године, међутим, није показала статистички значајну разлику у укупном преживљавању између два терапијска крака. На основу овог налаза, FDA и ЕМА су у јануару, односно априлу 2019. препоручиле обуставу увођења нових пацијената на терапију, а лек је формално повучен са тржишта САД 2. октобра 2019. године. Овај случај данас се наводи као уџбенички пример значаја обавезних потврђених испитивања фазе III код лекова који добијају убрзано одобрење на основу сурогатних или прелиминарних показатеља користи [138,139].

Сличну поуку носи и пример **бермекимаба** (MABp1, првобитно познат под трговачким именом *Xilonix*), потпуно хуманог антитела усмереног против интерлеукина-1 α , испитиваног као терапија туморски-индуковане кахексије код метастатског колоректалног карцинома рефракторног на стандардну хемотерапију. Кључна фаза III студија (XCITE) обустављена је 2016. године након интерималне анализе која није показала довољну ефикасност, а накнадна апликација за регистрацију одбијена је од стране ЕМА. Молекул није напустио клинички развој у целини, лиценца за дерматолошке индикације (атопијски дерматитис, гнојна хидраденитис) касније је продата фармацеутској компанији *Janssen*, али је развојни пут у онколошкој индикацији, за коју је првобитно био намењен, обустављен [140].

Милатузумаб (анти-CD74, у комбинацији са доксорубицином) обустављен је у фази I/II код CLL, множинске миеломе и NHL услед изостанка ефикасности, затим **дацетузумаб** (анти-CD40) и **занолимумаб** (анти-CD4, код периферног Т-ћелијског лимфома) обустављени су из истог разлога. Са друге стране, **лумиликсимаб** (анти-CD23, у комбинацији са ритуксимаб-флударабин-циклофосфамид режимом) прекинут је чак у фази III код CLL, а **галиксимаб** (анти-CD80) и **линтузумаб** (анти-CD33, коњугован са актинијумом-225) такође нису показали довољну клиничку корист да оправдају даљи развој [141]. Ова листа показује да обустава клиничког развоја због изостанка ефикасности представља уобичајену, а не изузетну појаву у развоју терапијских mAbs, чак и код молекула са јасно валидованом циљном молекулском метом.

Трећи, донекле другачији образац „мешовитог исхода“ илуструју **алемтузумаб** и **гемтузумаб озогамицин**, лекови повучени са тржишта услед безбедносних проблема, али накнадно поново уведени у клиничку употребу за другу индикацију или на основу нових података. Наиме, **алемтузумаб** (анти-CD52), првобитно одобрен за лечење хроничне лимфоцитне леукемије резистентне на алкилирајуће агенсе и **флударабин**, повучен је са америчког и европског тржишта у септембру 2012. године услед ограничења у индикацији и ризика од опортунистичких инфекција (нарочито реактивације цитомегаловируса); исти молекул данас се користи, под другим трговачким именом и по знатно вишој цени, искључиво за лечење тешких облика релапсирајуће мултипле склерозе [142,143]. **Гемтузумаб озогамицин** (анти-CD33 ADC са калихеамицином) коришћен је за лечење акутне мијелоидне леукемије од 2000. до 2010. године, када је повучен са тржишта након што су клиничка испитивања показала повећану стопу смртности без предности у односу на конвенционалну терапију; лек је поново уведен на америчко тржиште 2017. године на основу мета-анализа ранијих студија и резултата студије ALFA-0701, спроведене код старијих пацијената са AML [143]. Ова два примера показују да регулаторно повлачење лека није нужно коначно, накнадна реанализа података или проналажење уже, боље дефинисане популације пацијената понекад омогућава поновно увођење истог молекула у клиничку употребу.

Углавном, ови примери заједно показују да прелиминарни, обећавајући резултати раних фаза клиничких испитивања mAbs не гарантују потврду користи у коначним, потврдним студијама, што је важна методолошка поука за тумачење литературе о „обећавајућим кандидатима“ у развоју.

4.3. Коњугати радиоактивно обележених антитела, коњугати антитело-лек

CAR-T ћелијска терапија

Терапија химерним антигенским рецептором на Т-лимфоцитима (CAR-T) представља концептуално другачији имунотерапијски приступ у односу на класична mAbs, заснован на *ex vivo* генетском инжењерингу аутологних Т-лимфоцита спајањем екстрацелуларног, антиген-препознајућег домена (најчешће изведеног из scFv фрагмента антитела) с интрацелуларним сигналним доменима Т-ћелијског рецепторског комплекса, чиме се постиже антиген-специфична активација Т-ћелије независно од презентације антигена путем МНС молекула.

Кроз пет узастопних генерација, дизајн CAR конструкта еволуирао је од првобитне, једноставне архитектуре која садржи искључиво CD3 ζ сигнални домен (1. генерација, ограничене персистенције и антитуморске активности), преко увођења једног (2. генерација: CD28 или 4-1BB) или два костимулаторна домена (3. генерација), до четврте генерације (тзв. TRUCK ћелије, *T-cells redirected for universal cytokine-mediated killing*), модификоване да додатно секретују проинфламаторне цитокине попут IL-12 директно у туморском ткиву, чиме се превазилази имуносупресивно дејство туморске микросредине [128]. Пета генерација CAR конструкта укључује додатне мембранске рецепторе (нпр. IL-2R β) који активирају JAK/STAT сигнални пут, чиме се додатно побољшава персистенција и пенетрација CAR-T ћелија у солидне туморе, уз повољнији безбедносни профил у односу на раније генерације [144]. Поред CD19-усмерених производа помињаних у овом раду, тренутно су одобрени и CAR-T конструкти усмерени против BCMA антигена (идекабтаген вициклеуцел, цилтакабтаген аутолеуцел) и CD38 антигена, намењени лечењу рефракторне множинске миеломе [145].

Паралелно са CAR-T платформом, у претклиничком и раном клиничком развоју налазе се и CAR-NK ћелије, код којих се химерни антигенски рецептор уводи у природне ћелије убице (NK) уместо у Т-лимфоците. Овај приступ потенцијално нуди повољнији безбедносни профил (нижи ризик од синдрома ослобађања цитокина и неуротоксичности) и могућност алогене, „готове за употребу“ производње ћелијског производа, за разлику од искључиво аутологне природе класичне CAR-T терапије [146,147].

CAR-T терапија остварила је најзначајнији клинички успех код Б-ћелијских хематолошких малигнитета; овај успех се и даље шири, а о томе сведочи чињеница да је крајем 2025. године FDA одобрила **лисокабтагене маралеуцел** (анти-CD19 CAR-T) за лечење рецидивирајућег/рефракторног лимфома маргиналне зоне, чиме је CAR-T терапија по први пут ушла у домен индолентних Б-ћелијских лимфома, а не само агресивних форми болести [147]. Насупрот томе, примена CAR-T код солидних тумора остаје знатно ограничења, првенствено због имуносупресивног туморског микроокружења, недовољне инфилтрације CAR-T ћелија у туморско ткиво и слабије индукције меморијских Т-ћелија, подручје активног истраживања и комбинованих терапијских стратегија [148].

Клинички успех CAR-T терапије код агресивних Б-ћелијских лимфома документован је кроз три кључне студије другог реда лечења: **аксикабтаген цилолеуцел** (ZUMA-1), **тисагенлеуцел** (JULIET) и **лисокабтаген маралеуцел** (TRANSCEND), спроведене код тешко претходно лечених популација пацијената са релапсираним/рефракторним дифузним Б-крупноћелијским лимфомом, од којих су поједине укључивале и до 69% пацијената са три или више претходних терапијских линија [149,150,151,152,153]. Најчешћи и клинички најзначајнији нежељени ефекат CAR-T

терапије јесте синдром ослобађања цитокина (CRS), који се манифестује грозницом, хипотензијом, хипоксијом, главобољом и конфузијом; иако је CRS чест, у већини случајева се ради о благом до умереном облику који се успешно контролише симптоматском терапијом и, по потреби, применом тоцилизумаба [149,150,151,152,153].

Проширење спектра одобрених mAbs циљева

Успех циљања CD20 антигена ритуксимабом отворио је пут за одобрење више додатних анти-CD20 mAbs код хематолошких малигнитета, **ибритумомаб тиуксетана**, **тоситумомаба**, **офатумумаба** и **обинутузумаба**, као и антитела усмерених против других хематолошких антигена: анти-CD38 (**даратумумаб**), анти-CD52 (**алемтузумаб**), анти-SLAMF7 (**елотузумаб**) и биспецифичног анти-CD19/CD3 конструкта (**блинатумомаб**) [135].

Овај списак циљева наставља да се шири и у најновијем периоду. **Даратумумаб** је 2025. године добио проширење индикације на монотерапију код одраслих пацијената с високоризичном асимптоматском множинском миеломом, парадигматски померај ка раној имунској интервенцији пре развоја симптоматске болести. Истовремено, класа биспецифичних Т-ћелијских ангажера (bsAbs/BiTE) достигла је значајан напредак и код солидних тумора: **тарлатамаб**, биспецифично антитело усмерено против DLL3 (на туморској ћелији) и CD3 (на Т-лимфоциту), добило је крајем 2024. године редовно (традиционално) одобрење FDA за проширени стадијум сидноћелијског карцинома плућа након прогресије на платина-базираној хемотерапији, на основу резултата студије DeLLphi-304 која је показала статистички значајно продужење укупног и прогресија-слободног преживљавања у односу на стандардну хемотерапију [154,155]. Ово представља један од ретких примера успешне примене CD3-биспецифичног антитела код солидног тумора, за разлику од претежно хематолошких индикација других bsAbs формата који су детаљније описани у поглављу 1.3.

Уз тарлатамаб, одобрење су у претходне две године добила и друга нова биспецифична антитела различитих формата, **зеноцутузумаб** (HER2×HER3) за солидне туморе са NRG1 генским фузијама и **линвосетламаб** (BCMA×CD3) за рефракторну множинску миелому, док су у каснијим фазама клиничког развоја и кандидати попут **занидатамаба** (HER2×CD3) код HER2-позитивних гастроинтестиналних и туморима дојке, што укупно потврђује да биспецифични формат представља један од најактивнијих праваца развоја нових mAb-заснованих терапеутика

Категорија коњугата антитело-лек (ADC), описана у одељку 1.3 и 4.3 овог рада, такође наставља да се шири новим одобрењима: **датопотамаб дерукстекан**, ADC усмерен

против TROP2 антигена, добио је 2024. године убрзано одобрење FDA за EGFR-мутирани, локално узнатредовали/метастатски NSCLC након претходне EGFR-циљане терапије и хемотерапије на бази платине, што показује да развој ADC платформе није ограничен само на класичне мете попут HER2 и CD30, већ се шири и на нове туморске антигене [156].

Слична динамика присутна је и код других нових ADC мета: телисотузамаб ведотин (*Emrelis*), ADC усмерен против с-Met рецептора, добио је одобрење FDA током 2025. године за лечење NSCLC, чиме је потврђено да портфолио одобрених ADC мета наставља да се шири и на рецепторе тирозин-киназе изван класичних HER2/TROP2/CD30 циљева [157].

Проширење индикација *checkpoint* инхибитора обухвата и адјувантну примену након хируршког лечења код тумора без претходно доказане метастатске болести: студија KEYNOTE-564 показала је да адјувантни пембролизумаб након нефректомије код карцинома бубрежних ћелија светлоћелијског типа значајно побољшава укупно преживљавање у односу на плацебо (HR 0,62), што представља прву студију која је демонстрирала OS корист од адјувантне имунотерапије код овог малигнитета [158]. Комбинација ADC-а и *checkpoint* инхибитора такође постаје нови терапијски стандард: код метастатског уротелног карцинома, комбинација енфортумаб ведотина (анти-Nectin-4 ADC) и пембролизумаба показала је у првој линији лечења медијану укупног преживљавања од 31,5 наспрам 16,1 месеци у односу на стандардну хемиотерапију на бази платине (HR 0,47), чиме је по први пут комбинација ADC-а и имунотерапије постала преферирани режим прве линије за ову индикацију [159].

Биосимилари

Развој **биосличних лекова (биосимилара)** за моноклонска антитета представља значајан, али и технички захтеван подухват, будући да, за разлику од генеричких копија малих молекула, потпуно идентична репликација великих, комплексних биолошких молекула произведених у живим ћелијским системима није технички изводљива. Самим тим, циљ развоја биосимилара јесте, демонстрација високе сличности (не идентичности) у структури, функцији, ефикасности, безбедности и имуногености у односу на референтни (оригинаторски) лек [160].

Према прегледу из 2017. године, у развоју су у том тренутку била испитивања биосимилара ритуксимаба (NCT01701232, NCT02260804, NCT02268045), трастузумаба (NCT02162667, NCT01901146, NCT02187744) и бевацизумаба (NCT01763645, NCT02364999, NCT01966003) [89].

Овај „први талас“ биосимилара (ритуксимаб, трастузумаб, бевацизумаб), одобрен претежно у периоду 2017-2019, до данас је у потпуности сазрео и доминира тржиштем: у Европи је, према подацима ЕМА-е, до 2024. године одобрено преко 80 биосимилара свих

класа биолошких лекова, а само сегмент биосимилара моноклонских антитела представља тренутно највећу и најбрже растућу категорију овог тржишта, са пројектованим годишњим растом од преко 9% до 2035. године, вођеним истеком патентне заштите више од 40 mAb препарата између 2020. и 2024. године. Конкретни подаци о уштеди показују праву терапијску и фармакоекономску вредност овог развоја: улазак биосимилара на тржиште довео је до пада просечне продајне цене (ASP) ритуксимаба за око 33%, трастузумаба за око 24%, а бевацизумаба и трастузумаба заједно за 50-70% у односу на оригинаторске препарате, што директно проширује доступност ових терапија већем броју пацијената, посебно у здравственим системима с ограниченим ресурсима [161,162].

Оно што је битно споменути јесте да се такозвани развојни талас не зауставља на најстаријим представницима класе. У последњем тромесечју 2025. године FDA је одобрила **пертузумаб-dpzb** (*Poherdy*), први регистровани биосимилар пертузумаба, намењен примени у комбинацији с трастузумабом и доцетакселом код одраслих пацијената с HER2-позитивним метастатским карциномом дојке који претходно нису примали анти-HER2 терапију нити хемотерапију за метастатску болест [163].

Значајан помак представља и појава првих биосимилара **денозумаба**, потпуно хуманог анти-RANKL моноклонског антитела које се примењује у превенцији коштаних компликација код солидних тумора с метастазама у костима, као и у лечењу остеопорозе. Прва два одобрена биосимилара денозумаба (*Jubbonti*, референтни на *Prolia*, и *Wyost*, референтни на онколошки индикован *Xgeva*), развијена од стране компаније Sandoz, добила су одобрење FDA у марту 2024. године уз статус међусобне заменљивости (енгл. *interchangeability*) са оригинаторским препаратом за све одobreне индикације; током 2025. године одобрено је још седам додатних сетова биосимилара денозумаба, чиме је ова класа постала један од најактивнијих сегмената целокупног биосимиларног тржишта [164,165]

Посебно је занимљив случај имунотерапеутика (*checkpoint* инхибитора). Иако су **пембролизумаб** и **ниволумаб** два најпрофитабилнија онколошка лека на свету, губе патентну заштиту тек око 2028. године, најмање седам произвођача (укључујући *Samsung Bioepis*, *Sandoz*, *Celltrion*, *Bio-Thera* и *Amgen*) већ активно развија биосимиларе пембролизумаба, док се паралелни програми воде и за ниволумаб, трастузумаб и пертузумаб. Регулаторно занимљиво је то што су поједини спонзори делимично или потпуно обуставили класичне, скупе фазе III потврђених испитивања за ове кандидате, усмеравајући развојни пут ка регистрацији на основу фазе I испитивања и опсежне аналитичке (структурно-функционалне) карактеризације сличности. Ово је управо тренд који одражава регулаторну еволуцију приступа биосимиларима моноклонских антитела током последње деценије, од првобитно захтеваних обимних клиничких програма ка све већем ослањању на аналитичку демонстрацију сличности. Истовремено, оригинаторске компаније настоје да одбране тржишну позицију новим формулацијама (нпр. супкутане формулације пембролизумаба, ниволумаба и атезолизумаба, одобрене 2024-2025. године), што ће обликовати динамику конкуренције биосимилара у наредном периоду.

У клиничкој пракси, примена биосимилара отвара и практична питања међусобне заменљивости (енгл. *interchangeability*) између оригинаторског лека и биосимилара током трајања терапије, као и питање комбиноване примене биосимилара једног mAb са оригинаторским препаратом другог антитела у истом терапијском режиму (нпр. биосимилар трастузумаба у комбинацији са оригинаторским пертузумабом), што захтева додатну регулаторну и клиничку пажњу [164].

Претклинички (животињски и ћелијски) модели у откривању нових терапијских мета

Поред већ клинички валидованих мета, значајан део савременог истраживачког напора усмерен је на идентификацију и претклиничку карактеризацију молекула који нису обухваћени постојећим одобреним класама mAbs. Илустративан пример представља НЕК2 (*NIMA-related kinase 2*), серин/треонин-киназа физиолошки укључена у регулацију ћелијског циклуса, тачније у дупликацију и раздвајање центрозома, стабилизацију микротубула и функцију контролне тачке склапања митотичког вретена. Прекомерна експресија НЕК2 описана је код више типова солидних тумора (хепатоцелуларни карцином, карцином желуца, дукталан аденокарцином панкреаса) и повезана је с неповољнијом прогнозом, што овај протеин чини кандидатом за циљану имунотерапију [167,168,169].

У претклиничком моделу заснованом на мишијем анти-НЕК2 моноклонском антителу (добијеном стандардним хибридомским поступком, имунизацијом BALB/с мишева рекомбинантним НЕК2 протеином), инкубација хепатоцелуларних ћелијских линија (НерG2, Нер3В) с високом ендегеном експресијом НЕК2 са овим антителом инхибирала је ћелијску пролиферацију *in vitro*, док је *in vivo*, код мишева са супкутано трансплантованим ћелијама карцинома панкреаса, циљана инхибиција НЕК2 (сиРНК приступом) значајно успорила раст тумора и продужила преживљавање животиња с перитонеалном дисеминацијом болести [168]. Додатно, комбинована примена НЕК2-инхибитора и анти-PD-L1 антитела показала је синергистичку супресију туморског раста и *in vitro* и *in vivo*, отварајући могућност сензибилизације тумора панкреаса на имунотерапију усмерену ка PD-L1 осовини [167,168].

Овај пример илуструје типичан ток претклиничког развоја нове терапијске мете у онкологији: идентификација молекула повезаног с малигном трансформацијом, затим потврду функционалног значаја у ћелијским моделима, потом доказ концепта у животињским моделима *in vivo*, који даље води до потенцијалне клиничке транслације. Треба, међутим, нагласити да овакви налази представљају рани, преклинички ниво доказа јер иако знатан број молекула који покажу обећавајућу активност у ћелијским линијама и ксенографт моделима не успева да испољи ефикасност у каснијим фазама хуманих клиничких испитивања.

***In silico* приступи и вештачка интелигенција у дизајну антитела**

Последњих неколико година донело је значајну промену методологије развоја терапијских mAbs кроз интеграцију рачунарских (*in silico*) метода и вештачке интелигенције (ВИ), што допуњује традиционалне експерименталне приступе (хибридомску технологију, *phage display*) описане у уводу овог рада.

Модел добијени машинским учењем, тренирани на великим базама структурних података протеина (нпр. *Protein Data Bank*) уз алате попут *AlphaFold*-а, омогућавају прецизно предвиђање тродимензионалне структуре антитела директно из аминокиселинске секвенце, укључујући конформацију региона који одређују комплементарност (CDR), без потребе за скупом и временски захтевном експерименталном кристалографијом [170,171]. На основу оваквих структурних предвиђања, генеративни модели (нпр. варијациони аутоенкодери и генеративне супарничке мреже) могу предложити хиљаде нових кандидат-секвенци антитела с унапред дефинисаним својствима, жељеним афинитетом, специфичношћу и повољним фармакокинетичким профилем (тзв. *developability*), за само неколико сати рачунарског времена, наспрам месеци потребних за експерименталну селекцију методом *phage display* [172].

Ови приступи посебно добијају на значају у развоју коњугата антитело-лек (ADC): интеграција мулти-омских података (транскриптомских, протеомских) с методама графовског машинског учења омогућава системску, рачунарски вођену приоритизацију нових, тумор-селективних и лако интернализујућих антигена као потенцијалних мета за нове ADC конструкте, убрзавајући почетну фазу идентификације мете која традиционално представља један од најдужих корака у развоју терапеутика ове класе [173,174]. Упркос овим предностима, кандидати генерисани на овај начин и даље захтевају опсежну експерименталну (*in vitro* и *in vivo*) валидацију пре евентуалне клиничке транслације, а регулаторна тела (FDA, EMA) тренутно захтевају додатну објашњивост рачунарских модела као предуслов за прихватање оваквих кандидата у клинички развој [175].

4.4. Моноклонска антитела у најновијим претклиничким и клиничким студијама

Биомаркери и персонализовани избор терапије моноклонским антителима

Ефикасност моноклонских антитела у онкологији у највећој мери зависи од прецизне идентификације пацијената чији тумори носе циљну молекулску карактеристику, због чега је развој пратећих (енгл. *companion*) дијагностичких биомаркера постао неодвојив део клиничке примене готово сваког mAb описаног у овом раду. Управо због тога, кључни предиктивни биомаркери сумирани су овде као заокружена целина, уз осврт на најновије концептуалне помаке у овој области.

HER2 статус, од бинарне поделе ка континууму експресије

Деценијама је HER2 статус тестиран искључиво бинарно (позитиван/негативан), при чему су само тумори са амплификацијом гена или ИНС резултатом 3+ сматрани кандидатима за анти-HER2 терапију **трастузумабом** или **пертузумабом** [176]. Увођење коњугата антитело-лек трастузумаб дерукстекана суштински је изменило овај парадигму: студија **DESTINY-Breast04** показала је клинички значајну корист код тумора са ниском HER2 експресијом (ИНС 1+ или ИНС 2+/ISH-негативно), што је уведено у клиничку праксу под називом „HER2-low” карцином дојке. Најновија студија **DESTINY-Breast06** (2024) [176] отишла је корак даље, показујући да Т-DXd доноси клинички значајно продужење преживљавања без прогресије болести (13,2 наспрам 8,1 месеци; HR 0,62) и код пацијенткиња са изузетно ниском, до сада клинички занемариваном експресијом HER2, тзв. „HER2-ultralow” категоријом (слаба, непотпуна мембранска реактивност код <10% туморских ћелија), што практично уводи трећу дијагностичку категорију између класичног HER2-негативног и HER2-позитивног статуса [176,177]. Ова промена директно је утицала и на патолошку праксу: Колеџ америчких патолога (енгл. *College of American Pathologists*, CAP) увео је 2025. године нови образац извештавања који експлицитно раздваја ИНС категорије 0, 0+ («ultralow»), 1+ и 2+/ISH-негативно, уместо ранијег обједињавања свих ИНС 0 налаза у једну категорију [176]. Самим тим, биомаркер који је деценијама третиран као „присутан/одсутан” показао се као континуум, чија прецизна процена директно одређује да ли ће пацијенткиња имати приступ ефикасној ADC терапији.

RAS/RAF статус и течна биопсија у праћењу резистенције на анти-EGFR антитела

Код **цетуксимаба** и **панитумумаба**, статус KRAS/NRAS (и, у мањој мери, BRAF) одавно је успостављен као предуслов за примену терапије код mCRC, терапија је ефикасна

искључиво код тумора са дивљим (немутираним) типом ових гена. Оно што представља новију допуну овог концепта јесте увођење течне биопсије (анализе циркулишуће туморске ДНК, ctDNA) за динамичко праћење резистенције током самог лечења, а не само за иницијалну селекцију пацијената. Прегледни рад из 2024. године показује да генотипизација ctDNA поуздано детектује стицање RAS мутација (најчешће у субклоновима присутним пре терапије у ниској фреквенцији, који бивају позитивно селектовани под притиском анти-EGFR терапије) знатно пре него што се прогресија болести уочи радиографски, што отвара могућност ранијег увођења алтернативне терапије или, обрнуто, поновног увођења (енгл. *rechallenge*) анти-EGFR терапије код пацијената код којих ниво мутираног RAS клона у плазми накнадно опадне испод прага детекције [178].

PD-L1 експресија, MSI-H/dMMR статус и оптерећење туморским мутацијама (TMB)

Код инхибитора имунолошких контролних тачака (пембролизумаб, ниволумаб), три биомаркера тренутно имају регулаторно одобрење за селекцију пацијената: имунохистохемијска PD-L1 експресија, статус недостатка поправке неусклађених база (dMMR)/висока микросателитска нестабилност (MSI-H), и оптерећење туморским мутацијама (TMB), при чему се TMB процењује секвенционирањем нове генерације (нпр. FoundationOne CDx панел) и по правилу сматра позитивним изнад прага од ~10 мутација/Мб [179]. Ипак, новија литература све јасније указује на ограничења ослањања на самостално мерење PD-L1 експресије: систематски прегледи и мрежне мета-анализе показују да ниједан појединачни биомаркер нема задовољавајућу поузданост, делом и због значајне интра-туморске хетерогености PD-L1 експресије и техничке варијабилности између различитих ИHC тестова коришћених у клиничкој пракси, због чега се савремена истраживања усмеравају ка комбинованим биомаркерским стратегијама (PD-L1 + TMB, транскриптомски имунски потписи, мултиплекс имунохистохемија) уместо ослањања на један параметар [179].

Споменуте стратегије засноване на ”новим” биомаркерима, HER2 континуум, RAS праћење течном биопсијом и еволуција PD-1/PD-L1, померају парадигму од статичне, бинарне молекулске дијагностике ка динамичном, вишедимензионалном приступу избору и прилагођавању терапије моноклонским антителима током целог тока лечења, што представља један од најактивнијих праваца развоја прецизне онкологије данас.

5. Закључак

Анализа доступне научне литературе показује да су моноклонска антитела високоефикасна циљана терапија код бројних типова карцинома, посебно код тумора који експримирају специфичне антигене препознатљиве за дато антитело. У већини анализираних индикација, третман моноклонским антителима, самостално или у комбинацији са стандардном хемотерапијом, радиотерапијом или другим биолошким агенсима, доводи до продуженог преживљавања и повољнијег безбедносног профила у односу на конвенционалне терапијске приступе, при чему комбиновани режими често показују синергистички ефекат који резултира већом ефикасношћу лечења.

Ипак, ефекти терапије нису универзални нити подједнако изражени код свих малигнитета и код свих пацијената унутар исте дијагностичке категорије, степен клиничке користи у великој мери зависи управо од прецизне молекулске карактеризације тумора, што рад настоји да илуструје кроз преглед предиктивних биомаркера (HER2, EGFR/RAS статус, PD-L1 експресија, MSI-H/dMMR) обрађених у Дискусији. Моноклонска антитела, према томе, не представљају универзално решење за лечење карцинома, али овај рад показује да је у последњих неколико деценија остварен значајан напредак и у развоју циљаних терапеутских платформи (химерна, хуманизована и потпуно хумана антитела, биспецифични конструкти, коњугати антитело-лек) и у идентификацији специфичних туморских маркера на које се терапија може усмерити.

На основу тренутних научних сазнања, чини се вероватним да ће даљи напредак у молекулској дијагностици, укључујући динамичко праћење резистенције путем течне биопсије и континуирано проширивање спектра валидованих биомаркера, попут недавно уведеног континуума HER2 експресије (HER2-low/HER2-ultralow), постепено потискивати неселективну примену конвенционалне хемотерапије у корист терапијских приступа прилагођених молекулском профилу сваког тумора појединачно. Оваква персонализација избора терапије омогућила би прецизнију селекцију пацијената код којих се може очекивати највећа терапијска корист од лечења моноклонским антителима. Појава биосимилара додатно доприноси овом тренду, будући да шире доступност већ доступних терапеутских mAbs, док развој нових структурних формата, попут биспецифичних Т-ћелијских ангажера који све чешће показују активност и код солидних тумора, проширује терапијски арсенал изван граница класичних антигенских мета.

Подаци анализирани у овом раду такође указују на то да се нежељени ефекти терапије моноклонским антителима могу успешно контролисати адекватним мониторингом пацијента и правовременом интервенцијом, чиме се доприноси очувању квалитета живота током лечења. Ово је нарочито значајно код имунски посредованих нежељених реакција карактеристичних за инхибиторе имунолошких контролних тачака, где рано препознавање и адекватна имуносупресивна терапија представљају кључан фактор безбедности лечења.

6. Лумепамура

- [1] Gencsoy Eker S, Inetas Yengin G, Tatar C, Oktem G. A Comprehensive Review of the Mechanisms and Clinical Development of Monoclonal Antibodies in Cancer Therapy. *Adv Exp Med Biol.* 2025;1479:181-203. doi: 10.1007/5584_2024_838. PMID: 39666264.
- [2] Leavy O. The birth of monoclonal antibodies. *Nat Immunol.* 2016;17(S1):S13. doi:10.1038/ni.3608.
- [3] Buss NA, Henderson SJ, McFarlane M, Shenton JM, de Haan L. Monoclonal antibody therapeutics: history and future. *Curr Opin Pharmacol.* 2012 Oct;12(5):615-22. doi: 10.1016/j.coph.2012.08.001. Epub 2012 Aug 21. PMID: 22920732.
- [4] O'Mahony D, Bishop MR. Monoclonal antibody therapy. *Front Biosci.* 2006 May 1;11:1620-35. doi: 10.2741/1909. PMID: 16368542.
- [5] Schroeder HW Jr, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(2 Suppl 2):S41-S52. doi:10.1016/j.jaci.2009.09.046.
- [6] Vattepu R, Sneed SL, Anthony RM. Sialylation as an important regulator of antibody function. *Front Immunol.* 2022;13:818736. doi:10.3389/fimmu.2022.818736.
- [7] Justiz Vaillant AA, Jamal Z, Patel P, Ramphul K. Immunoglobulin. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513460/>. PMID: 30035936.
- [8] Justiz Vaillant AA, Qurie A. Immunodeficiency. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513224/>. PMID: 29763203.
- [9] Serritella AV, Grewal NKS, Peterson B, et al. Assessment of the impact of FcγRIIIA single-nucleotide polymorphisms on the efficacy of IgG1 monoclonal antibodies in patients with advanced gastroesophageal adenocarcinoma. *ESMO Gastrointest Oncol.* 2023;2:100012. doi:10.1016/j.esmogo.2023.08.011.
- [10] Stanfield RL, Wilson IA. Antibody structure. *Microbiol Spectr.* 2014;2(2):AID-0012-2013. doi:10.1128/microbiolspec.AID-0012-2013.
- [11] <https://absoluteantibody.com/antibody-resources/antibody-overview/antibody-structure/>, последњи пут посећено: 10. маја 2026. године.
- [12] Goulet DR, Atkins WM. Considerations for the design of antibody-based therapeutics. *J Pharm Sci.* 2020;109(1):74-103. doi:10.1016/j.xphs.2019.05.031. PMID: 31173761.

- [13] Damelang T, Brinkhaus M, van Osch TLJ, Schuurman J, Labrijn AF, Rispen T, et al. Impact of structural modifications of IgG antibodies on effector functions. *Front Immunol.* 2024;14:1304365. doi:10.3389/fimmu.2023.1304365.
- [14] Kronimus Y, Dodel R, Galuska SP, Neumann S. IgG Fc N-glycosylation: alterations in neurologic diseases and potential therapeutic target? *J Autoimmun.* 2019;96:14-23. doi:10.1016/j.jaut.2018.10.006.
- [15] Mimura Y, Katoh T, Saldova R, et al. Glycosylation engineering of therapeutic IgG antibodies: challenges for the safety, functionality and efficacy. *Protein Cell.* 2018;9(1):47-62. doi:10.1007/s13238-017-0433-3. PMID: 28597152.
- [16] Cymer F, Beck H, Rohde A, Reusch D. Therapeutic monoclonal antibody N-glycosylation: structure, function and therapeutic potential. *Biologicals.* 2018;52:1-11. doi:10.1016/j.biologicals.2018.01.001.
- [17] Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoediting. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:329-360.
- [18] Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD, Smyth MJ. New insights into cancer immunoediting and its three component phases—elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol.* 2014;27:16-25.
- [19] Coulie PG, Van den Eynde BJ, van der Bruggen P, Boon T. Tumour antigens recognized by T lymphocytes: at the core of cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2014;14(2):135-146.
- [20] Hillman Y, Lustiger D, Wine Y. Antibody-based nanotechnology. *Nanotechnology.* 2019;30(28):282001. doi:10.1088/1361-6528/ab12f4. PMID: 30909177.
- [21] Mitra S, Tomar PC. Hybridoma technology; advancements, clinical significance, and future aspects. *J Genet Eng Biotechnol.* 2021;19:159. doi:10.1186/s43141-021-00264-6. PMID: 34661773. PMCID: PMC8521504.
- [22] Nadler LM, Stashenko P, Hardy R, et al. Serotherapy of a patient with a monoclonal antibody directed against a human lymphoma-associated antigen. *Cancer Res.* 1980;40:3147-54.
- [23] Press OW, Appelbaum F, Ledbetter JA, et al. Monoclonal antibody 1F5 (anti-CD20) serotherapy of human B cell lymphomas. *Blood.* 1987;69:584-91.
- [24] Salles G, Barrett M, Foà R, et al. Rituximab in B-Cell Hematologic Malignancies: A Review of 20 Years of Clinical Experience. *Adv Ther.* 2017;34(10):2232-2273. doi:10.1007/s12325-017-0612-x.
- [25] <https://old-ib.bioninja.com.au/higher-level/topic-11-animal-physiology/111-antibody-production-and/monoclonal-antibodies.html> , последњи пут посећено 23.06.2026.године.

- [26] Doevendans E, Schellekens H. Immunogenicity of Innovative and Biosimilar Monoclonal Antibodies. *Antibodies (Basel)*. 2019;8(1):21. doi:10.3390/antib8010021. PMID: 31544811.
- [27] Klee GG. Human anti-mouse antibodies. *Arch Pathol Lab Med*. 2000 Jun;124(6):921-923. doi:10.5858/2000-124-0921-HAMA. PMID: 10835540.
- [28] Lu RM, Hwang YC, Liu IJ, et al. Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases. *J Biomed Sci*. 2020;27(1):1. doi:10.1186/s12929-019-0592-z. PMID: 31894001.
- [29] Jones PT, Dear PH, Foote J, Neuberger MS, Winter G. Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse. *Nature*. 1986;321(6069):522-525. PMID: 3713831.
- [30] Lotus M, Julian D, Andrew G et al. Molecular Insights into Fully Human and Humanized Monoclonal Antibodies. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2016;1;9(7):13-15.
- [31] Harding FA, Stickler MM, Razo J, et al. The immunogenicity of humanized and fully human antibodies: residual immunogenicity resides in the CDR regions. *MAbs*. 2010;2(3):256-265. doi:10.4161/mabs.2.3.11641.
- [32] Waldmann H. Human Monoclonal Antibodies: The Benefits of Humanization. *Methods Mol Biol*. 2019;1904:1-10. doi: 10.1007/978-1-4939-8958-4_1. PMID: 30539464.
- [33] Jarboe J, Gupta A, Saif MW. Therapeutic human monoclonal antibodies against cancer. *Methods Mol Biol*. 2014;1060:61-77. doi: 10.1007/978-1-62703-586-6_4. PMID: 24037836.
- [34] Jakobovits A, Amado RG, Yang X, Roskos LK, Schwab G. From XenoMouse technology to panitumumab, the first fully human antibody product from transgenic mice. *Nat Biotechnol*. 2007;25(10):1134-1143. doi:10.1038/nbt1337.
- [35] Ledsgaard L, Kilstrup M, Karatt-Vellatt A, McCafferty J, Laustsen AH. Basics of Antibody Phage Display Technology. *Toxins (Basel)*. 2018 Jun 9;10(6):236. doi: 10.3390/toxins10060236. PMID: 29890762; PMCID: PMC6024766.
- [36] Lin AY, Dinner SN. Moxetumomab pasudotox for hairy cell leukemia: preclinical development to FDA approval. *Blood Adv*. 2019;3(19):2905-2910. doi:10.1182/bloodadvances.2019000507.
- [37] Thatcher N, Hirsch FR, Luft AV, et al. Necitumumab plus gemcitabine and cisplatin versus gemcitabine and cisplatin alone as first-line therapy in patients with stage IV squamous non-small-cell lung cancer (SQUIRE): an open-label, randomised, controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(7):763-774.

- [38] Wainberg ZA, Hecht JR. Panitumumab in colorectal cancer. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2007;7(7):967-973. doi:10.1586/14737140.7.7.967.
- [39] Klein C, Brinkmann U, Reichert JM, Kontermann RE. The present and future of bispecific antibodies for cancer therapy. *Nat Rev Drug Discov.* 2024 Apr;23(4):301-319. doi: 10.1038/s41573-024-00896-6. Epub 2024 Mar 6. PMID: 38448606.
- [40] Kesik-Brodacka M. Progress in biopharmaceutical development. *Biotechnol Appl Biochem.* 2018;65(3):306-322. doi:10.1002/bab.1617.
- [41] Surowka M, Klein C. A pivotal decade for bispecific antibodies? *MAbs.* 2024;16(1):2334571. doi:10.1080/19420862.2024.2334571.
- [42] Thakur A, Huang M, Lum LG. Bispecific antibody based therapeutics: strengths and challenges. *Blood Rev.* 2018;32(4):339-347. doi:10.1016/j.blre.2018.02.004.
- [43] Syed YY. Catumaxomab: First Approval. *Drugs.* 2025 Jul;85(7):957-963. doi: 10.1007/s40265-025-02187-9. Epub 2025 Apr 30. PMID: 40304879.
- [44] Frampton JE. Catumaxomab: in malignant ascites. *Drugs.* 2012 Jul 9;72(10):1399-410. doi: 10.2165/11209040-000000000-00000. PMID: 22676343.
- [45] Linke R, Klein A, Seimetz D. Catumaxomab: clinical development and future directions. *MAbs.* 2010;2(2):129-136. doi:10.4161/mabs.2.2.11221.
- [46] Hoffman LM, Gore L. Blinatumomab, a bi-specific anti-CD19/CD3 BiTE® antibody for the treatment of acute lymphoblastic leukemia: perspectives and current pediatric applications. *Front Oncol.* 2014;4:63. doi:10.3389/fonc.2014.00063.
- [47] Ruck T, Huntemann N, Öztürk M, Schreiber S, Lichtenberg S, Masannek L, Nelke C, Ben Moussa H, Ulrych T, Seifert M, Mougiakakos D, Dietrich S, Meuth SG. CD19xCD3 T cell engager blinatumomab effective in refractory generalized myasthenic syndromes. *Mol Ther.* 2025 Sep 3;33(9):4135-4142.
- [48] Nagorsen D, Kufer P, Baeuerle PA, Bargou RC. Blinatumomab: a historical perspective. *Pharmacol Ther.* 2012;136(3):334-342. doi:10.1016/j.pharmthera.2012.07.013.
- [49] Rizzieri D. Zevalin® (ibritumomab tiuxetan): after more than a decade of treatment experience, what have we learned? *Crit Rev Oncol Hematol.* 2016;105:5-17. doi:10.1016/j.critrevonc.2016.07.008.
- [50] Weiner LM, Surana R, Wang S. Monoclonal antibodies: versatile platforms for cancer immunotherapy. *Nat Rev Immunol.* 2010;10(5):317-327. doi:10.1038/nri2744.

- [51] Witzig TE, Flinn IW, Gordon LI, et al. Treatment with ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy in patients with rituximab-refractory follicular non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 2002;20(15):3262-3269. doi:10.1200/JCO.2002.11.017.
- [52] Van der Weyden C, Dickinson M, et al. Brentuximab vedotin in T-cell lymphoma. *Expert Rev Hematol*. 2019;12(1):5-19. doi:10.1080/17474086.2019.1558399.
- [53] Najjar MK, Manore SG, et al. Antibody-drug conjugates for the treatment of HER2-positive breast cancer. *Genes (Basel)*. 2022;13(11):2065. doi:10.3390/genes13112065.
- [54] Barok M, Joensuu H, Isola J. Trastuzumab emtansine: mechanisms of action and drug resistance. *Breast Cancer Res*. 2014;16(2):209. doi:10.1186/bcr3621.
- [55] Khoury R, Saleh K, Khalife N, Saleh M, Chahine C, Ibrahim R, Lecesne A. Mechanisms of Resistance to Antibody-Drug Conjugates. *Int J Mol Sci*. 2023 Jun 2;24(11):9674. doi: 10.3390/ijms24119674. PMID: 37298631; PMCID: PMC10253543.
- [56] Kholodenko RV, Kalinovskiy DV, Doronin II, Ponomarev ED, Kholodenko IV. Antibody Fragments as Potential Biopharmaceuticals for Cancer Therapy: Success and Limitations. *Curr Med Chem*. 2019;26(3):396-426. doi: 10.2174/0929867324666170817152554. PMID: 28820071.
- [57] Les formats alternatifs aux anticorps - Fragments et nouvelles charpentes [Antibody alternative formats: antibody fragments and new frameworks]. *Med Sci (Paris)*. 2019 Dec;35(12):1092-1097. French. doi: 10.1051/medsci/2019217. Epub 2020 Jan 6. PMID: 31903922.
- [58] Catuogno S, Esposito CL, de Franciscis V. Antibody-mediated drug delivery. *Int J Pharm*. 2021;596:120268. doi:10.1016/j.ijpharm.2021.120268.
- [59] Lu RM, Hwang YC, Liu JJ, et al. Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases. *J Biomed Sci*. 2020;27(1):1. doi:10.1186/s12929-019-0592-z.
- [60] Bates A, Power CA. David vs. Goliath: The Structure, Function, and Clinical Prospects of Antibody Fragments. *Antibodies (Basel)*. 2019;8(2):28. doi:10.3390/antib8020028. PMID: 31544834.
- [61] Holliger P, Winter G. Diabodies: small bispecific antibody fragments. *Cancer Immunol Immunother*. 1997;45(3-4):128-130. doi:10.1007/s002620050414.
- [62] Muyldermans S. Nanobodies: natural single-domain antibodies. *Annu Rev Biochem*. 2013;82:775-797. doi:10.1146/annurev-biochem-063011-092449.
- [63] Frenzel A, Kügler J, Helmsing S, et al. Construction of human antibody gene libraries and selection of antibodies by phage display. In: Kontermann RE, Dübel S, editors. *Antibody*

engineering. *Methods Mol Biol.* Vol. 1060. New York (NY): Springer; 2014. p. 215-243. doi:10.1007/978-1-62703-586-6_12.

[64] Weiner GJ. Monoclonal antibody mechanisms of action in cancer. *Immunol Res.* 2007;39(1-3):271-8. doi: 10.1007/s12026-007-0073-4. PMID: 17917071.

[65] Cerny T, Borisch B, Introna M, Johnson P, Rose AL. Mechanism of action of rituximab. *Anticancer Drugs.* 2002 Nov;13 Suppl 2:S3-10. doi: 10.1097/00001813-200211002-00002. PMID: 12710585.

[66] Zahavi D, Weiner L. Monoclonal antibodies in cancer therapy. *Antibodies (Basel).* 2020;9(3):34.

[67] Moraes JZ, Hamaguchi B, Braggion C, Speciale ER, Cesar FBV, Soares GFDS, Osaki JH, Pereira TM, Aguiar RB. Hybridoma technology: is it still useful? *Curr Res Immunol.* 2021 Mar 22;2:32-40. doi: 10.1016/j.crimmu.2021.03.002. PMID: 35492397; PMCID: PMC9040095.

[68] Kumar M, Jalota A, et al. Therapeutic antibodies for the prevention and treatment of cancer. *J Biomed Sci.* 2024;31(1):6. doi:10.1186/s12929-024-00996-w.

[69] Grillo-López AJ, White CA, Dallaire BK, Varns CL, Shen CD, Wei A, et al. Rituximab: the first monoclonal antibody approved for the treatment of lymphoma. *Curr Pharm Biotechnol.* 2000;1(1):1-9. doi:10.2174/1389201003379059.

[70] Kaegi C, Wuest B, Schreiner J, Steiner UC, Vultaggio A, Matucci A, Crowley C, Boyman O. Systematic Review of Safety and Efficacy of Rituximab in Treating Immune-Mediated Disorders. *Front Immunol.* 2019 Sep 6;10:1990. doi: 10.3389/fimmu.2019.01990. PMID: 31555262; PMCID: PMC6743223.

[71] Kundnani NR, Levai MC, Popa MD, Borza C, Iacob M, Mederle AL, Blidisel A. Biologics in Systemic Lupus Erythematosus: Recent Evolutions and Benefits. *Pharmaceutics.* 2024 Sep 6;16(9):1176. doi: 10.3390/pharmaceutics16091176. PMID: 39339212; PMCID: PMC11434659.

[72] Salles G, Barrett M, Foà R, Maurer J, O'Brien S, Valente N, Wenger M, Maloney DG. Rituximab in B-Cell Hematologic Malignancies: A Review of 20 Years of Clinical Experience. *Adv Ther.* 2017 Oct;34(10):2232-2273. doi: 10.1007/s12325-017-0612-x. Epub 2017 Oct 5. PMID: 28983798; PMCID: PMC5656728.

[73] Cartron G, Watier H et al. From the bench to the bedside: ways to improve rituximab efficacy. *Blood,* 2021 (print ISSN 0006-4971, online ISSN 1528-0020)

[74] Yang J, Mo J, Dai J, Ye C, Cen W, Zheng X, Jiang L, Ye L. Cetuximab promotes RSL3-induced ferroptosis by suppressing the Nrf2/HO-1 signalling pathway in KRAS mutant colorectal cancer. *Cell Death Dis.* 2021 Nov 13;12(11):1079. doi: 10.1038/s41419-021-04367-3. PMID: 34775496; PMCID: PMC8590697.

- [75] Ge XJ, Jiang JY, Wang M, Li MY, Zheng LM, Feng ZX, Liu L. Cetuximab enhances the efficiency of irinotecan through simultaneously inhibiting the MAPK signaling and ABCG2 in colorectal cancer cells. *Pathol Res Pract*. 2020 Feb;216(2):152798. doi: 10.1016/j.prp.2019.152798. Epub 2019 Dec 23. PMID: 31889589.
- [76] Luo W, Li Y, Ye F, Li Q, Zhang G, Li J, Li X. Anti-EGFR monoclonal antibody plus chemotherapy for treating advanced non-small cell lung cancer: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2021 Nov 24;100(47):e27954. doi: 10.1097/MD.00000000000027954. PMID: 34964780; PMCID: PMC8615333.
- [77] Zhou J, He M, Zhao Q, Shi E, Wang H, Ponkshe V, Song J, Wu Z, Ji D, Kranz G, Tscherne A, Schwenk-Zieger S, Razak NA, Hess J, Belka C, Zitzelsberger H, Ourailidis I, Stögbauer F, Boxberg M, Budczies J, Reichel CA, Canis M, Baumeister P, Wang H, Unger K, Mock A, Gires O. EGFR-mediated local invasiveness and response to Cetuximab in head and neck cancer. *Mol Cancer*. 2025 Mar 22;24(1):94. doi: 10.1186/s12943-025-02290-1. PMID: 40121428; PMCID: PMC11929204.
- [78] Muraro E, Fanetti G, Lupato V, et al. Cetuximab in locally advanced head and neck squamous cell carcinoma: biological mechanisms involved in efficacy, toxicity and resistance. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2021;164:103424. doi:10.1016/j.critrevonc.2021.103424.
- [79] Ohishi T, Kaneko MK, Yoshida Y, Takashima A, Kato Y, Kawada M. Current targeted therapy for metastatic colorectal cancer. *Int J Mol Sci*. 2023;24(2):1702. doi:10.3390/ijms24021702.
- [80] Mazzarella L, Guida A, Curigliano G. Cetuximab for treating non-small cell lung cancer. *Expert Opin Biol Ther*. 2018;18(4):483-493. doi:10.1080/14712598.2018.1452906.
- [81] Cunningham D, Humblet Y, Siena S, Khayat D, Bleiberg H, Santoro A, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2004;351(4):337-345. doi:10.1056/NEJMoa033025.
- [82] Basudan AM. The role of immune checkpoint inhibitors in cancer therapy. *Clin Pract*. 2023;13(1):22-40. doi: 10.3390/clinpract13010003
- [83] Garcia J, Hurwitz HI, Sandler AB, Miles D, Coleman RL, Deurloo R, Chinot OL. Bevacizumab (Avastin®) in cancer treatment: A review of 15 years of clinical experience and future outlook. *Cancer Treat Rev*. 2020 Jun;86:102017. doi: 10.1016/j.ctrv.2020.102017. Epub 2020 Mar 26. PMID: 32335505.
- [84] Des Guez G, Uzzan B, Nicolas P, Cucherat M, Morere JF, Benamouzig R, et al. Microvessel density and VEGF expression are prognostic factors in colorectal cancer: meta-analysis of the literature. *Br J Cancer*. 2006;94(12):1823-1832. doi:10.1038/sj.bjc.6603176.

- [85] Seto T, Higashiyama M, Funai H, et al. Prognostic value of expression of vascular endothelial growth factor and its flt-1 and KDR receptors in stage I non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2006;53(1):91-96. doi:10.1016/j.lungcan.2006.02.009.
- [86] Foekens JA, Peters HA, Grebenchtchikov N, et al. High tumor levels of vascular endothelial growth factor predict poor response to systemic therapy in advanced breast cancer. *Cancer Res*. 2001;61(14):5407-5414.
- [87] Manders P, Beex LV, Tjan-Heijnen VC, Span PN, Sweep CG. Vascular endothelial growth factor is associated with the efficacy of endocrine therapy in patients with advanced breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2002;8(10):3255-3259.
- [88] Flynn JR, Wang L, Gillespie DL, Stoddard GJ, Reid JK, Owens J, et al. Hypoxia-regulated protein expression, patient characteristics, and preoperative imaging as predictors of survival in adults with glioblastoma multiforme. *Cancer*. 2008;113(5):1032-1042. doi:10.1002/cncr.23678.
- [90] Paley PJ, Staskus KA, Gebhard K, Mohanraj D, Twigg LB, Carson LF, et al. Vascular endothelial growth factor expression in early stage ovarian carcinoma. *Cancer*. 1997;80(1):98-106. doi:10.1002/(SICI)1097-0142(19970701)80:1<98::AID-CNCR12>3.0.CO;2-A.
- [91] Garcia J, Hurwitz HI, Sandler AB, Miles D, Coleman RL, Deurloo R, Chinot OL. Bevacizumab (Avastin®) in cancer treatment: A review of 15 years of clinical experience and future outlook. *Cancer Treat Rev*. 2020 Jun;86:102017. doi: 10.1016/j.ctrv.2020.102017. Epub 2020 Mar 26. PMID: 32335505.
- [92] Monk BJ, Lorusso D, Fujiwara K, Sehouli J. Optimal bevacizumab treatment strategy in advanced ovarian cancer: A review. *Cancer Treat Rev*. 2025 Jun;137:102945. doi: 10.1016/j.ctrv.2025.102945. Epub 2025 Apr 20. PMID: 40349571.
- [93] Aghajanian C, et al. OCEANS: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial. *J Clin Oncol*. 2012;30:2039-2045. Pujade-Lauraine E, et al. AURELIA trial. *J Clin Oncol*. 2014;32:1302-1308.
- [94] Ray-Coquard I, et al. Olaparib plus bevacizumab as first-line maintenance in ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2019;381:2416-2428.
- [95] Keam SJ. Trastuzumab Deruxtecan: First Approval. *Drugs*. 2020 Apr;80(5):501-508. doi: 10.1007/s40265-020-01281-4. PMID: 32144719.
- [96] Lee J, Park YH. Trastuzumab deruxtecan for HER2+ advanced breast cancer. *Future Oncol*. 2022 Jan;18(1):7-19. doi: 10.2217/fon-2021-0550. Epub 2021 Nov 26. PMID: 34823373.
- [97] Ewer MS, Ewer SM. Trastuzumab: weighing the benefits and the risks. *Expert Opin Drug Saf*. 2008;7(4):431-440. doi:10.1517/14740338.7.4.431.

- [98] Zhang Y, Zhang J, Liu H, et al. Advances in anti-angiogenic therapy for cancer: mechanisms and clinical applications. *Front Oncol.* 2024;13:1254321. doi:10.3389/fonc.2023.1254321.
- [99] Weinberg RA. The biology of cancer: discovery and prospects. *Adv Cancer Res.* 2015;127:1-10. doi:10.1016/bs.acc.2015.03.006.
- [100] Hattinger CM, Fanelli M, Tavanti E, Vella S, Riganti C, Picci P, et al. Doxorubicin-resistant osteosarcoma: novel therapeutic approaches in sight? *Future Oncol.* 2017;13(8):673-677. doi:10.2217/fon-2016-0519.
- [101] Lee J, Park YH. Trastuzumab deruxtecan for HER2+ advanced breast cancer. *Future Oncol.* 2022 Jan;18(1):7-19. doi: 10.2217/fon-2021-0550. Epub 2021 Nov 26. PMID: 34823373.
- [102] Trastuzumab/Hyaluronidase-oysk: A New Option for Patients With HER2-Positive Breast Cancer. *Ann Pharmacother.* 2020 Mar;54(3):254-261. doi: 10.1177/1060028019877936. Epub 2019 Oct 9. PMID: 31595774.
- [103] Subcutaneous Trastuzumab: A Review in HER2-Positive Breast Cancer. *Target Oncol.* 2019 Dec;14(6):749-758. doi: 10.1007/s11523-019-00684-y. PMID: 31686307.
- [104] Geng W, Thomas H, Chen Z, Yan Z, Zhang P, Zhang M, Huang W, Ren X, Wang Z, Ding K, et al. Mechanisms of acquired resistance to HER2-positive breast cancer therapies induced by HER3: a comprehensive review. *Eur J Pharmacol.* 2024;977:176725. doi:10.1016/j.ejphar.2024.176725.
- [105] Modi S, et al. Trastuzumab deruxtecan in previously treated HER2-low advanced breast cancer. *N Engl J Med.* 2022;387:9-20.
- [106] Marty M, et al. Randomized phase II trial of the efficacy and safety of trastuzumab combined with docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23:4265-4274.
- [107] Sabatier R, Gonçalves A. Autorisation de mise sur le marché du pertuzumab (Perjeta®) dans les cancers du sein métastatiques HER2 positifs. *Bull Cancer.* 2014;101(9):765-771. doi:10.1684/bdc.2014.1940.
- [108] Gupta A, Cheung WY. Immune checkpoint inhibitors in gastrointestinal cancers: current status and future directions. *J Clin Med.* 2023;12(4):1456. doi:10.3390/jcm12041456.
- [109] Sanchez A, Koyama T, Miura Y, et al. Hypoxia-inducible factors in cancer progression and therapy resistance. *Front Oncol.* 2016;6:90. doi:10.3389/fonc.2016.00090.

- [110] Fakih MG, Salvatore L, Esaki T, Modest DP, Lopez-Bravo DP, Taieb J, Karamouzis MV, Ruiz-Garcia E, Kim TW, Kuboki Y, Meriggi F, Cunningham D, Yeh KH, Chan E, Chao J, Saportas Y, Tran Q, Cremolini C, Pietrantonio F. Sotorasib plus Panitumumab in Refractory Colorectal Cancer with Mutated KRASG12C. *N Engl J Med*. 2023 Dec 7;389(23):2125-2139. doi: 10.1056/NEJMoa2308795. Epub 2023 Oct 22. Erratum in: *N Engl J Med*. 2025 Feb 13;392(7):728. doi: 10.1056/NEJMs240006. PMID: 37870968.
- [111] Watanabe J, Muro K, Shitara K, Yamazaki K, Shiozawa M, Ohori H, Takashima A, Yokota M, Makiyama A, Akazawa N, Ojima H, Yuasa Y, Miwa K, Yasui H, Oki E, Sato T, Naitoh T, Komatsu Y, Kato T, Hihara M, Soeda J, Misumi T, Yamamoto K, Akagi K, Ochiai A, Uetake H, Tsuchihara K, Yoshino T. Panitumumab vs Bevacizumab Added to Standard First-line Chemotherapy and Overall Survival Among Patients With RAS Wild-type, Left-Sided Metastatic Colorectal Cancer: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2023 Apr 18;329(15):1271-1282. doi: 10.1001/jama.2023.4428. Erratum in: *JAMA*. 2023 Jun 27;329(24):2196. doi: 10.1001/jama.2023.10533. PMID: 37071094; PMCID: PMC10114040.
- [112] Gemmete JJ, Mukherji SK. Panitumumab (Vectibix). *AJNR Am J Neuroradiol*. 2011;32(6):1002-1003. doi:10.3174/ajnr.A2601.
- [113] Kopper L. Panitumumab: an arrow on target. *Pathol Oncol Res*. 2010;16(2):143-148. doi:10.1007/s12253-010-9257-7.
- [114] Brahmer JR, Hammers H, Lipson EJ. Nivolumab: targeting PD-1 to bolster antitumor immunity. *Future Oncol*. 2015;11(9):1307-1326. doi:10.2217/fon.15.52.
- [115] Weber JS, D'Angelo SP, Minor D, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(4):375-384. doi:10.1016/S1470-2045(15)70076-8.
- [116] Robert C, Long GV, Brady B, Dutriaux C, et al. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation. *N Engl J Med*. 2015;372(4):320-330. doi:10.1056/NEJMoa1412082.
- [117] Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(17):1627-1639. doi:10.1056/NEJMoa1507643.
- [118] Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced squamous-cell non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(2):123-135. doi:10.1056/NEJMoa1504627.
- [119] Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, et al. Nivolumab versus everolimus in advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2015;373(19):1803-1813. doi:10.1056/NEJMoa1510665.

- [120] Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I, Halwani A, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*. 2015;372(4):311-319. doi:10.1056/NEJMoa1411087.
- [121] Ferris RL, Blumenschein G Jr, Fayette J, Guigay J, Colevas AD, Licitra L, et al. Nivolumab for recurrent squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med*. 2016;375(19):1856-1867. doi:10.1056/NEJMoa1602252.
- [122] Kang YK, Boku N, Satoh T, Ryu MH, Chao Y, Kato K, et al. Nivolumab in patients with advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer refractory to, or intolerant of, at least two previous chemotherapy regimens (ONO-4538-12, ATTRACTION-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2017;390(10111):2461-2471. doi:10.1016/S0140-6736(17)31827-5.
- [123] Fan Z, Wu C, Chen M, Jiang Y, Wu Y, Mao R, Fan Y. The generation of PD-L1 and PD-L2 in cancer cells: From nuclear chromatin reorganization to extracellular presentation. *Acta Pharm Sin B*. 2022 Mar;12(3):1041-1053. doi: 10.1016/j.apsb.2021.09.010. Epub 2021 Sep 16. PMID: 35530130; PMCID: PMC9069407.
- [124] Parvez A, Choudhary F, Mudgal P, Khan R, Qureshi KA, Farooqi H, Aspatwar A. PD-1 and PD-L1: architects of immune symphony and immunotherapy breakthroughs in cancer treatment. *Front Immunol*. 2023 Dec 1;14:1296341. doi: 10.3389/fimmu.2023.1296341. PMID: 38106415; PMCID: PMC10722272.
- [125] Graziani G, Tentori L, Navarra P. Ipilimumab: a novel immunostimulatory monoclonal antibody for the treatment of cancer. *Pharmacol Res*. 2012;65(1):9-22. doi:10.1016/j.phrs.2011.09.002.
- [126] Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med*. 2010;363(8):711-723. doi:10.1056/NEJMoa1003466.
- [127] Ribas A, Chmielowski B, Glaspy JA. Do we need a different set of response assessment criteria for tumor immunotherapy? *Clin Cancer Res*. 2009;15(23):7116-7118. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-1627.
- [128] Wolchok JD, Chiarion-Sileni V, Rutkowski P, Cowey CL, Schadendorf D, Wagstaff J, Queirolo P, Dummer R, Butler MO, Hill AG, Postow MA, Gaudy-Marqueste C, Medina T, Lao CD, Walker J, Márquez-Rodas I, Haanen JBAG, Guidoboni M, Maio M, Schöffski P, Carlino MS, Sandhu S, Lebbé C, Ascierto PA, Long GV, Ritchings C, Nassar A, Askelson M, Benito MP, Wang W, Hodi FS, Larkin J; CheckMate 067 Investigators. Final, 10-Year Outcomes with Nivolumab plus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2025 Jan 2;392(1):11-22. doi: 10.1056/NEJMoa2407417. Epub 2024 Sep 15. PMID: 39282897; PMCID: PMC12080919.

- [129] Carbone DP, Ciuleanu TE, Cobo M, Schenker M, Zurawski B, Menezes J, Richardet E, Felip E, Cheng Y, Juan-Vidal O, Alexandru A, Mizutani H, Reinmuth N, Lu S, Reck M, John T, Scherpereel A, De Marchi P, Aoyama T, Sathyanarayana P, Grootendorst DJ, Hu N, Ip V, Hung YH, Paz-Ares LG. Nivolumab plus ipilimumab with chemotherapy as first-line treatment of patients with metastatic non-small-cell lung cancer: final, 6-year outcomes from CheckMate 9LA. *ESMO Open*. 2025 Jun;10(6):105123. doi: 10.1016/j.esmoop.2025.105123. Epub 2025 May 29. PMID: 40446626; PMCID: PMC12166824.
- [130] Robert C, et al. CheckMate 067: 5-year outcomes with nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med*. 2019
- [131] LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012–. Tremelimumab. 2023 Jan 15. PMID: 36795905.
- [132] Curti BD, Faries MB. Tremelimumab. *Drugs R D*. 2010;10(2):123-132. doi:10.2165/11584530-000000000-00000.
- [133] Keam SJ. Tremelimumab: first approval. *Drugs*. 2023;83(1):93-102. doi:10.1007/s40265-022-01827-8.
- [134] Comin-Anduix B, Escuin-Ordinas H, Ibarrondo FJ. Tremelimumab: research and clinical development. *Onco Targets Ther*. 2016;9:1767-1776. doi:10.2147/OTT.S65802.
- [135] Chiavenna SM, Jaworski JP, Vendrell A. State of the art in anti-cancer mAbs. *J Biomed Sci*. 2017 Feb 20;24(1):15. doi: 10.1186/s12929-016-0311-y. PMID: 28219375; PMCID: PMC5319201.
- [136] Qin S, Xu L, Yi M, Yu S, Wu K, Luo S. Novel immune checkpoint targets: moving beyond PD-1 and CTLA-4. *Mol Cancer*. 2019;18:155
- [137] Cortes J, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy in advanced triple-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2022;387:217-226.
- [138] Shirley M. Olaratumab: First Global Approval. *Drugs*. 2017 Jan;77(1):107-112. doi: 10.1007/s40265-016-0680-2. PMID: 27995580.
- [139] Tap WD, Wagner AJ, Schöffski P, Martin-Broto J, Krarup-Hansen A, Ganjoo KN, Yen CC, Abdul Razak AR, Spira A, Kawai A, Le Cesne A, Van Tine BA, Naito Y, Park SH, Fedenko A, Pápai Z, Soldatenkova V, Shahir A, Mo G, Wright J, Jones RL; ANNOUNCE Investigators. Effect of Doxorubicin Plus Olaratumab vs Doxorubicin Plus Placebo on Survival in Patients With Advanced Soft Tissue Sarcomas: The ANNOUNCE Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2020 Apr 7;323(13):1266-1276. doi: 10.1001/jama.2020.1707. PMID: 32259228; PMCID: PMC7139275.

- [140] Arnold DD, Yalamanoglu A, Boyman O. Systematic Review of Safety and Efficacy of IL-1-Targeted Biologics in Treating Immune-Mediated Disorders. *Front Immunol.* 2022 Jul 6;13:888392. doi: 10.3389/fimmu.2022.888392. PMID: 35874710; PMCID: PMC9296857.
- [141] Castaneda CA, et al. Trends and clinical development pipeline of monoclonal antibodies in oncology.
- [142] European Medicines Agency, Public statement on MabCampath withdrawal (2012).
- [143] Castaigne S, et al. Effect of gemtuzumab ozogamicin on survival of adult patients with de-novo acute myeloid leukaemia (ALFA-0701 randomised open-label phase 3 study). *Lancet.* 2012;379:1508-1516.
- [144] Zhang C, Liu J, Zhong JF, Zhang X. Engineering CAR-T cells. *Biomark Res.* 2017;5:22
- [145] Alnefaie A, Albogami S, Asiri Y, et al. Chimeric antigen receptor T-cells: an overview of concepts, applications and future perspectives. *Front Immunol.* 2022;13:797440. doi: 10.3389/fimmu.2022.797440
- [146] Fanciulli G, et al. Immunotherapy of Neuroendocrine Neoplasms: Any Role for the Chimeric Antigen Receptor T Cells? *Cancers (Basel).* 2022 Aug 18;14(16):3991. doi:10.3390/cancers14163991. PMID: 36010987.
- [147] Li H, Song W, Li Z, Zhang M. Preclinical and clinical studies of CAR-NK-cell therapies for malignancies. *Front Immunol.* 2022;13:992232. doi:10.3389/fimmu.2022.992232. PMID: 36353643.
- [148] Mackensen A, Müller F, Mougiakakos D, Böltz S, Wilhelm A, Aigner M, Völkl S, Simon D, Kleyer A, Munoz L, Kretschmann S, Kharboutli S, Gary R, Reimann H, Rösler W, Uderhardt S, Bang H, Herrmann M, Ekici AB, Buettner C, Habenicht KM, Winkler TH, Krönke G, Schett G. Anti-CD19 CAR T cell therapy for refractory systemic lupus erythematosus. *Nat Med.* 2022 Oct;28(10):2124-2132. doi: 10.1038/s41591-022-02017-5. Epub 2022 Sep 15. Erratum in: *Nat Med.* 2023 Nov;29(11):2956. doi: 10.1038/s41591-022-02091-9. PMID: 36109639.
- [149] Du B, Qin J, Lin B, Zhang J, Li D, Liu M. CAR-T therapy in solid tumors. *Cancer Cell.* 2025 Apr 14;43(4):665-679. doi: 10.1016/j.ccell.2025.03.019. PMID: 40233718.
- [150] Neelapu SS, et al. Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1). *N Engl J Med.* 2017;377:2531-2544.
- [151] Schuster SJ, et al. Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma (JULIET). *N Engl J Med.* 2019;380:45-56.
- [152] Abramson JS, et al. Lisocabtagene maraleucel in relapsed or refractory large B-cell lymphomas (TRANSCEND). *Lancet.* 2020;396:839-852.

- [153] Lee DW, et al. ASTCT consensus grading for cytokine release syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25:625-638.
- [154] Ahn MJ, Cho BC, Felip E, Korantzis I, Ohashi K, Majem M, Juan-Vidal O, Handzhiev S, Izumi H, Lee JS, Dziadziuszko R, Wolf J, Blackhall F, Reck M, Bustamante Alvarez J, Hummel HD, Dingemans AC, Sands J, Akamatsu H, Owonikoko TK, Ramalingam SS, Borghaei H, Johnson ML, Huang S, Mukherjee S, Minocha M, Jiang T, Martinez P, Anderson ES, Paz-Ares L; DeLLphi-301 Investigators. Tarlatamab for Patients with Previously Treated Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2023 Nov 30;389(22):2063-2075. doi: 10.1056/NEJMoa2307980. Epub 2023 Oct 20. PMID: 37861218.
- [155] Zhou S, Liu M, Ren F, Meng X, Yu J. The landscape of bispecific T cell engager in cancer treatment. *Biomark Res*. 2021;9:38. doi:10.1186/s40364-021-00294-9. PMID: 34039409.
- [156] Klein C, Brinkmann U, Reichert JM, Kontermann RE. The present and future of bispecific antibodies for cancer therapy. *Nat Rev Drug Discov*. 2024 Apr;23(4):301-319. doi: 10.1038/s41573-024-00896-6. Epub 2024 Mar 6. PMID: 38448606.
- [157] Tsuchikama K, Anami Y, Ha SY, Yamazaki CM. Exploring the next generation of antibody–drug conjugates. *Nat Rev Clin Oncol*. 2024;21(3):203-223. doi:10.1038/s41571-023-00850-2. PMID: 38191923.
- [158] Choueiri TK, et al. Adjuvant pembrolizumab after nephrectomy in renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2021;385:683-694. doi:10.1056/NEJMoa2106391. PMID: 34407342
- [159] Powles T, et al. Enfortumab vedotin and pembrolizumab in untreated advanced urothelial cancer. *N Engl J Med*. 2024;390:875-888. doi:10.1056/NEJMoa2312117. PMID: 38446675.
- [160] Ditani AS, Mallick PP, Anup N, Tambe V, Polaka S, Sengupta P, Rajpoot K, Tekade RK. Biosimilars accessible in the market for the treatment of cancer. *J Control Release*. 2021 Aug 10;336:112-129. doi: 10.1016/j.jconrel.2021.06.014. Epub 2021 Jun 11. PMID: 34126171.
- [161] Peliçário Vargas B, Sari MHM, Ferreira LM. Trastuzumab in Breast Cancer Treatment: The Era of Biosimilars. *Anticancer Agents Med Chem*. 2022;22(14):2507-2516. doi: 10.2174/1871520622666220302114313. PMID: 35236272.
- [162] Liu T, Liu D, Jin Y, Dong M. Trastuzumab biosimilars vs trastuzumab originator in the treatment of HER2-positive breast cancer: a systematic review and network meta-analysis. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2022 Dec;44(6):809-815. doi: 10.1080/08923973.2022.2090956. Epub 2022 Jun 22. Erratum in: *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2022 Dec;44(6):I. doi: 10.1080/08923973.2022.2138143. PMID: 35708278.
- [163] Drugs and Lactation Database (LactMed®) [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Child Health and Human Development; 2006–. Pertuzumab. 2026 Jun 15. PMID: 29999650.

- [164] Jain S. Prevention and Management of Denosumab Discontinuation Rebound Fractures. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2024 Dec;53(4):559-583. doi: 10.1016/j.ecl.2024.08.002. Epub 2024 Sep 24. PMID: 39448137.
- [166] Kumar S, Wang M, Kim AS, Center JR, McDonald MM, Girgis CM. Denosumab discontinuation in the clinic: implications of rebound bone turnover and emerging strategies to prevent bone loss and fractures. *J Bone Miner Res*. 2025 Aug 24;40(9):1017-1034. doi: 10.1093/jbmr/zjaf037. PMID: 40057981; PMCID: PMC12406127.
- [167] Palombo R, Caporali S, Falconi M, Iacovelli F, Morozzo Della Rocca B, Lo Surdo A, Campione E, Candi E, Melino G, Bernardini S, Terrinoni A. Luteolin-7-O- β -d-Glucoside Inhibits Cellular Energy Production Interacting with HEK2 in Keratinocytes. *Int J Mol Sci*. 2019 May 31;20(11):2689. doi: 10.3390/ijms20112689. PMID: 31159225; PMCID: PMC6600217.
- [168] Chen Q, Li H, Yang L, Wen S, Huang X, Liu J, Guo X, Hu B, Li G, He M. Preparation of an anti-NEK2 monoclonal antibody and its application in liver cancer. *BMC Biotechnol*. 2021;21:63. doi: 10.1186/s12896-021-00717-3.
- [169] Zhang X, Huang X, Xu J, Li E, Lao M, Tang T, Zhang G, Guo C, Zhang X, Chen W, Yadav DK, Bai X, Liang T. NEK2 inhibition triggers anti-pancreatic cancer immunity by targeting PD-L1. *Nat Commun*. 2021;12:4536. doi: 10.1038/s41467-021-24769-3.
- [170] Kavousipour S, Barazesh M, Mohammadi S, et al. Artificial intelligence in antibody design and development: harnessing the power of computational approaches. *Med Biol Eng Comput*. 2025;63(12):3475–3501. doi: 10.1007/s11517-025-03429-4.
- [171] Bashour H, et al. Frontiers in Drug Discovery review — AI-accelerated therapeutic antibody development: practical insights. *Front Drug Discov*. 2024. doi: 10.3389/fddsv.2024.1447867.
- [172] Cheng J, Liang T, Xie XQ, Feng Z, Meng L. A new era of antibody discovery: an in-depth review of AI-driven approaches. *Drug Discov Today*. 2024;29(6):103984. doi:10.1016/j.drudis.2024.103984. PMID: 38642702.
- [173] Artificial Intelligence in Cancer Drug Discovery in 2025. *OncoDaily* [online просмотр]. 2025.
- [174] Leveraging artificial intelligence in antibody-drug conjugate development: from target identification to clinical translation in oncology. *npj Precis Oncol*. 2025;9.
- [175] EMA Reflection paper on the use of Artificial Intelligence in the lifecycle of medicines (EMA, 2024).
- [176] International Expert Consensus Recommendations for HER2 Reporting in Breast Cancer: Focus on HER2-Low and Ultralow Categories. *Mod Pathol*. 2025.

[177] Bardia A, Hu X, Dent R, Yonemori K, Barrios CH, O'Shaughnessy J, et al.; DESTINY-Breast06 Trial Investigators. Trastuzumab deruxtecan after endocrine therapy in metastatic breast cancer. *N Engl J Med*. 2024;391(22):2110-2122. doi:10.1056/NEJMoa2407086. PMID: 39282896.

[178] Ríos-Hoyo A, Monzonís X, Vidal J, Linares J, Montagut C. Unveiling acquired resistance to anti-EGFR therapies in colorectal cancer: a long and winding road. *Front Pharmacol*. 2024;15:1398419. doi:10.3389/fphar.2024.1398419. PMID: 38711991; PMCID: PMC11070789.

[179] Lagos GG, Izar B, Rizvi NA. Beyond Tumor PD-L1: Emerging Genomic Biomarkers for Checkpoint Inhibitor Immunotherapy. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2020;40:e47-e57. doi:10.1200/EDBK_289967. PMID: 32315237.