

MONOKLONSKA PROTITELESA: KAKO NAPREJ?

MONOCLONAL ANTIBODIES: WHAT 'S NEXT?

AVTOR / AUTHOR:

dr. Gašper Marc, mag. farm.

ROCHE farmacevtska družba d.o.o.
Vodovodna cesta 109, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: gasper.marc@roche.com

1 UVOD

Uvajanje terapevtskih monoklonskih protiteles v klinično prakso na prelomu tisočletja je izzvalo veliko zanimanje tako strokovne kot tudi javnosti. Sočasno se je termin »biološka zdravila« pričel uporabljati tudi izven farmacevtskih krogov. Zdi se, da v klinični medicini najprej v onkologiji, kjer je označeval le rekombinantna monoklonska protitelesa kot povsem nov tip učinkovin v primerjavi s klasičnimi kemoterapevtiki. Sledila je hitra širitev tudi na druga klinična področja.

Izraz »biološka zdravila« je sicer opredeljen v 6. členu Zakona o zdravilih in zajema širok nabor učinkovin, ki so biološkega izvora ali pa pridobljene s postopkom, ki vključuje biološke sisteme (1). Opredelitev bioloških zdravil in njihova klasifikacija je tako osnovana predvsem na izvoru oz. načinu pridobivanja, v precej manjši meri pa na strukturnih, farmacevtskih ali kliničnih lastnostih. Veliko večino danes klinično aktualnih protiteles tako uvrščamo med rekombinantna biotehnoška zdravila, kamor spadajo tudi sodobni

POVZETEK

Čeprav se biološka zdravila uporabljajo že dlje časa, pa se z novimi učinkovinami odpirajo povsem nove možnosti zdravljenja.

Razvoj molekulske biologije je omogočil vpogled v številne biološke procese na molekulskem nivoju in s tem odprl pot za racionalno načrtovanje novih zdravilnih učinkovin s ciljanim delovanjem. Sočasno je hiter razvoj biotehnoških metod omogočil pripravo kompleksnih struktur kot so npr. monoklonska protitelesa in modifikacije njihovih struktur.

Skupina biotehnoških zdravil, ki je v zadnjem obdobju doživela najbolj dinamičen razvoj, so prav gotovo monoklonska protitelesa. V dveh desetletjih so v klinično prakso vpeljali že več kot 50 različnih učinkovin iz te skupine, ki so pomembno izboljšali izide zdravljenja, še zlasti na področju rakavih in avtoimunskih bolezni. V razvoju so številne nove učinkovine, z sočasnim delovanjem na več celičnih tarč in z izboljšanimi lastnostmi.

KLJUČNE BESEDE:

Biološka zdravila, monoklonska protitelesa, konjugirana protitelesa, bispecifična protitelesa

ABSTRACT

Biologicals have been present in clinical practice for years, but new agents of this class have introduced new therapeutic options and significantly improved clinical outcomes.

Advances in molecular biology enabled insight in many biological processes on molecular level and enabled rational drug design for targeted therapies. At the same time, very intensive development of biotechnology enabled preparation of complex structures like monoclonal antibodies and modification of their structure.

Among different biologicals, monoclonal antibodies have grown into one of the most dynamic groups of biological. In two decades more than 50 different monoclonal antibodies were introduced as therapeutic agents that have significantly improved treatment outcomes in different areas, especially in cancer treatment and autoimmune diseases. New therapeutic agents acting on multiple cell targets and with improved properties are in development.

KEY WORDS:

Biologicals, monoclonal antibodies, antibody conjugates, bispecific antibodies

terapevtski proteini, kot so npr. epoetini, interferoni, rastni dejavniki ipd. (2).

Razvoj molekulske biologije, biotehnologije in drugih ved pa v ospredje vse bolj postavlja nove terapevtske pristope, kot so npr. zdravila za gensko zdravljenje, ki jih tudi uvrščamo med biološka zdravila (2). Pričakujemo lahko, da se bo zelo splošni izraz »biološka zdravila« v številnih okoljih še naprej uporabljal za nove pripravke iz te skupine, še posebej, če bo šlo za nove načine delovanja oz. nova prijemališča.

2 »KLASIČNA« MONOKLONSKA PROTITELESA

Razvoj rekombinantnih tehnologij je v zadnji četrtini 20. stoletja omogočil dva izjemno pomembna farmakoterapevtska preboja. Najprej na področju substitucijskega zdravljenja z učinkovinami kot so inzulin, eritropoetin (oz. epoetini), dejavnik VIII in drugimi terapevtskimi proteini, npr. interferoni. Tehnologija rekombinantne DNA je omogočila pripravo bistveno homogenejših in čistejših pripravkov kot prej uporabljene metode izolacije iz različnih človeških ali živalskih tkiv. Hkrati je še vedno edina tehnologija, ki lahko zagotavlja potrebne količine tovrstnih učinkovin.

Z racionalnim načrtovanjem zdravilnih učinkovin so uspeli pripraviti različne analoge z izboljšanimi farmakokinetičnimi lastnostmi. V klinično prakso so bili uvedeni analogi z dolgotrajnejšim delovanjem, ki omogočajo enkrat tedensko ali celo enkrat mesečno dajanje zdravila. Še vedno pa so nove učinkovine delovale z istimi mehanizmi in na iste tarče molekule.

Z vedno večjim spoznavanjem in razumevanjem signalnih poti v celicah so znanstveniki identificirali tudi nove potencialne tarče. Za številne so ugotovili, da so proteinske narave in da lahko delujejo kot antigeni. To pomeni, da jih je mogoče specifično blokirati z že desetletja znano imunsko reakcijo med antigenom in protitelesom. Nadaljnji razvoj je pripeljal do koncepta monoklonskih protiteles – imunoglobulinov, pridobljenih iz celičnega klona, ki se specifično vežejo le z enim antigenom. Njihovo pripravo je kot prva omogočila metoda hibridomske tehnologije Köhlerja in Milsteina (3), za katero sta leta 1984 prejela Nobelovo nagrado.

V naslednjih letih so sledile številne tehnološke izboljšave. Postopek priprave so močno nadgradili z uvedbo rekombinantnih tehnik.

Monoklonska protitelesa prve generacije, pripravljena s hibridomsko tehnologijo, so bila mišja (murinska) in pri testiranjih so se pokazale nekatere pomanjkljivosti. Veliko težavo je predstavljala imunogenost, ki se je izražala z različnimi alergijskimi reakcijami. Mišja protitelesa so sama delovala kot antigeni in organizem se je odzval s tvorbo humanih protiteles nanje.

Z uporabo rekombinantne tehnologije so posamezne dele mišje imunoglobulinske molekule zamenjali z ustreznimi deli človeškega protitelesa. Najprej so na ta način pripravili t.i. himerna protitelesa, pri katerih delež mišje aminokislinske sestave znaša okoli 30%. Sledila so humanizirana protitelesa, pri katerih delež mišje aminokislinske sestave znaša manj kot 10 % in nazadnje človeška, pri katerih aminokislinska sestava v celoti ustreza človeškemu proteinu. Danes so v klinični uporabi večinoma humanizirana ali človeška protitelesa.

V Evropi so bila prva uvedena v drugi polovici devetdesetih let, nato pa se je njihovo število hitro povečevalo. Do leta 2010 je naraslo na več kot 20, v letošnjem letu pa že na 49 originatorskih (4), s tem, da se je njihovo število v zadnjih petih letih podvojilo.

Med indikacijami za uporabo monoklonskih protiteles prevladujejo različne rakave in imunske vnetne bolezni, kot so revmatoidni artritis, luskavica, Crohnova bolezen, ulcerozni kolitis, multipla skleroza. Uvedba terapevtskih protiteles je pri številnih obolenjih pomembno izboljšala rezultate zdravljenja in hkrati še dodatno spodbudila razvoj. Raziskovalci načrtujejo protitelesa za nove tarče in jih razvijajo za nove indikacije, hkrati pa uvajajo nove koncepte, s katerimi želijo izboljšati njihove lastnosti. Ključni izzivi, s katerimi se srečujejo, so:

- terapevtska učinkovitost, kjer se veliko pričakuje od kombiniranega delovanja (konjugirana in bispecifična protitelesa);
- izboljšana stabilnost, s čimer bi močno poenostavili rokovanje, izboljšali varnost in ki bi omogočala nove formulacije;
- farmakokinetične lastnosti, s katerimi bi poenostavili in vpeljali bolniku prijaznejše načine aplikacije.

3 KONJUGIRANA PROTITELESA

Učinkovitost zdravljenja s protitelesi lahko povečamo tako, da nanje vežemo dodatne učinkovine in jih tako uporabimo



kot transportni sistem. Koncept konjugacije je pravzaprav precej starejši, kot so terapevtska protitelesa, saj ga nekateri pripisujejo že Paulu Erlichu na začetku prejšnjega stoletja (5, 6).

V številnih primerih uporabo učinkovine močno omejuje njena toksičnost. To je tudi osnovna pomanjkljivost in omejitev mnogih kemoterapevtikov. Kljub številnim poskusom izboljšanja njihovega farmakoterapijskega profila z usmerjanjem na tumorske celice, do pravega preboja v klinični praksi ni prišlo. Z uspešnim razvojem terapevtskih protiteles se je zanimanje za njihovo pripravo močno povečalo.

Načrtovanje konjugiranih protiteles je zapleteno in zahtevno. Strukturo sestavljajo trije osnovni elementi: protitelo, citotoksični del in povezovalni element med njima. Vsi trije vplivajo na učinkovitost in neželene učinke konjugata. Protitelo mora biti usmerjeno na tarčno mesto, specifično za tumorske celice. Ustrezno izbrana tarča je predpogoj za selektiven transport na mesto delovanja. Citotoksična učinkovina mora izkazovati visoko stopnjo delovanja proti tumorskim celicam, kar je med drugim odvisno tudi od vrste tumorja. Transportne kapacitete protitelesa so omejene. Običajno se na posamezno protitelo vežejo tri do štiri molekule citotoksične učinkovine, kar pomeni, da mora le-ta učinkovati v pikomolarnih koncentracijah (7).

Tudi vloga povezovalnega elementa je ključna za delovanje konjugata. Načrtujemo ga tako, da sta protitelo in citotoksična učinkovina nanj vezani s kovalentno vezjo, ki mora zagotavljati primerno stabilnost. Po aplikaciji se konjugat distribuira s krvnim obtokom do rakavih celic, kjer se veže na tarčno molekulo. Med distribucijo ne sme priti do predčasnega sproščanja citotoksične učinkovine, zaradi česar bi lahko prišlo do neželenega delovanja na zdrave celice. Raziskovalci so razvili različne kemične strukture, pri katerih kovalentno vez cepijo intracelularni proteazni encimi, kot je npr. katepsin B (6). Na ta način pride do sproščanja citotoksične učinkovine znotraj tumorske celice. Zagotavljanje nadzorovanega sproščanja se je pokazalo kot zelo zahtevno. Leta 2000 je FDA odobrila prvo konjugirano protitelo, gemtuzumab ozogamicin in sicer za zdravljenje akutne mieloične levkemije. Spremljanje varnosti je kazalo na težave, ki so jih povezovali z nenačrtovanim sproščanjem citotoksičnega kaliheamicina v krvnem obtoku (8). V primerjavi s standardnim kemoterapevtskim zdravljenjem so zaznali večje število resnih neželenih dogodkov, tudi smrti. Poleg tega zdravilo v običajni klinični praksi ni izkazovalo pričakovane učinkovitosti, zato ga je imetnik dovoljenja leta 2010 umaknil iz uporabe. Vendar so raziskovalci z raziskavami nadaljevali in ugotovili, da s spremembo odmerjanja in kemoterapevtske sheme lahko izboljšajo varnost

in učinkovitost. Pred kratkim, letošnjega 1. septembra, je FDA gemtuzumab ozogamicin ponovno registrirala s spremenjenim režimom odmerjanja in izborom bolnikov (9).

FDA in EMA sta odobrila še dve novi tovrstni zdravili in sicer bretuksimab vedotin (za zdravljenje ne-Hodgkinovega limfoma) in trastuzumab emtanzin (za zdravljenje metastatskega raka dojke). V eni izmed novejših objav so pred kratkim predstavili okoli 40 različnih konjugatov v različnih fazah kliničnega testiranja (10). Ocenjujejo, da se je v kliničnem testiranju več kot 60 novih kandidatov konjugiranih protiteles (7).

Posebno podskupino predstavljajo konjugati protiteles z radioizotopi. Gre za kombinacijo farmako- in radioterapije. Na terapevtsko protitelo je vezan radioaktivni izotop kot vir sevanja. Protitelo deluje na izbrano tarčo na rakavi celici in hkrati transportira vir sevanja v njeno neposredno bližino. Trenutno je odobreno za klinično uporabo le eno, ibritumomab tiuksetan, ki je proti-CD20 protitelo z ^{90}Y kot virom β sevanja. (11).

Iz skupine konjugatov se v prihodnosti nadejamo novih uspešnih učinkovin, čeprav se zdi, da je zaenkrat njihov domet omejen na optimizacijo učinkov. V konjugiranem delu je pozornost raziskovalcev večinoma usmerjena na citotoksične učinkovine in s tem na področje rakavih bolezni. Raziskovalci upajo, da bodo na ta način omogočili uporabo nekaterih že znanih biološko aktivnih molekul z visoko učinkovitostjo in neprimernim varnostnim profilom. Morebitni uspehi bi močno pospešili raziskave v smeri novih tovrstnih molekul in s tem odprli nove možnosti zdravljenja rakavih bolezni. Pri drugih boleznih zaenkrat ni dosežkov, ki bi že nakazovali vpeljavo v klinična preskušanja.

4 BISPECIFIČNA MONOKLONSKA PROTITELESA

Za številne bolezni danes ugotavljamo, da so pogojene s številnimi dejavniki in da pri njihovem razvoju sodelujejo in se prepletajo različne signalne poti, z različnimi mediatorji in receptorskimi mesti. Pri rakavih boleznih, kjer je ena ključnih težav pojav odpornosti na zdravljenje, različne študije potrjujejo predpostavko, da sočasno delovanje na več tarčnih mest izboljša terapevtsko učinkovitost (12, 13). Raziskovalci so tako razvili skupino bispecifičnih protiteles, ki imajo sposobnost vezave dveh različnih antigenov, kar odpira številne možnosti interakcij (14). Čeprav koncept bispecifičnosti med imunologi ni nov (15), je v praksi zaživel

še pred leti, ko so uspešno razrešili številne proizvodne težave, nestabilnost in imunogenost tovrstnih molekul.

Na površini iste celice sta lahko prisotna dva različna antigena, ki predstavljata dve različni mesti delovanja. S sočasno uporabo dveh različnih protiteles dosežemo dvojno blokado, od katere pričakujemo večjo klinično učinkovitost. Možna je tudi dvojna blokada dveh različnih vezavnih mest na isti ciljnih molekuli. Tak primer predstavlja receptor za humani epidermalni rastni faktor 2 (HER-2), ki ga lahko blokiramo na dveh različnih mestih: na poddomeni IV, kjer deluje trastuzumab in na poddomeni II, kjer deluje pertuzumab. V tem primeru so klinične študije dokazale, da je sočasno zdravljenje z obema učinkovinama uspešnejše. Kombinaciji dveh različnih protiteles se lahko izognemo s pripravo bispecifičnega protitelesa, ki lahko stopa v interakcijo z obema vezavnima mestoma. Pričakujemo, da bo njegov učinek vsaj primerljiv s kombiniranim zdravljenjem. Še pomembnejše je, da bispecifično protitelo lahko stopa v interakcijo z vezavnimi mesti na različnih celicah in jih s tem poveže (16). Tako se protitelo lahko veže na površino rakave celice in deluje neposredno nanjo, hkrati pa z vezavo na npr. limfocite T le-te približa in usmerja proti rakavi celici (17).

Tak primer bispecifičnega in hkrati trifunkcionalnega protitelesa je katmaksomab, ki so ga raziskovalci razvili za zdravljenje malignega ascitesa pri karcinomih, pozitivnih na EpCAM (18, 19).

Adhezijska molekula epitelijskih celic (EpCAM) je transmembranski protein, ki je pri različnih tumorjih čezmerno izražen in je primerna tarča za delovanje protitelesa na celice epitelijskih karcinomov. S t.i. kvadrroma tehnologijo so raziskovalci pripravili bispecifično proti-EpCAM in proti-CD3 protitelo. Z vezavo na EpCAM bispecifično protitelo deluje neposredno na tumorske celice. CD3 domena se nahaja na limfocitih T in katmaksomab z vezavo na to tarčo limfocite T usmeri k rakavim celicam. Dodatna, tretja funkcionalnost pa se nahaja na Fc regiji, kjer preko receptorja Fcγ lahko aktivira še druge imunske celice - makrofage, naravne celice ubijalke ali dendritične celice, ki nato na različne načine učinkujejo na tumorske celice (20).

Leta 2009 je bil katmaksomab prvo bispecifično protitelo, ki je na EMA pridobilo dovoljenje za promet. Učinkovitost katmaksomaba so preskušali tudi pri številnih drugih malignih tumorjih z izraženim EpCAM. Žal se v klinični praksi zdravilo ni uveljavilo, zato je imetnik dovoljenja za promet le-tega pred nedavnim umaknil. Sporočilo na spletni strani EMA navaja komercialne razloge (21).

Trenutno je tako pri EMA kot tudi pri FDA registrirano le eno bispecifično monoklonsko protitelo, blinatumomab,

vendar je razvoj v tej skupini izjemno intenziven, z več deset protitelesi v različnih fazah kliničnih preskušanj. Bispecifična protitelesa se razvijajo tudi za neonkološke indikacije kot so revmatoidni artritis, hemofilija, okužbe in starostna degeneracija makule (14, 22).

Posebej zanimiv je razvoj na področju strukturnih modifikacij protiteles, od katerega pričakujemo izboljšavo neugodnih farmakokinetičnih parametrov klasičnih protiteles. Med prve poskuse v tej smeri spadajo fragmenti protiteles, ki so jih v osemdesetih letih pripravili z encimsko razgradnjo in kasneje z rekombinantnimi tehnologijami (23). Osnovni ogrodji oz. t.i. formata iz te skupine sta Fab', ki je enovalentni fragment težke in lahke verige ter F(ab')₂, ki je njegov dimerni analog. Še bolj reducirani so fragmenti tipa scFv, ki jih sestavlja le variabilni del težke in lahke verige. Podobno kot v prejšnjem primeru lahko z dimerizacijo pripravimo dvovalentni analog. Z nadaljnjimi povezovanji različnih osnovnih fragmentov so na ta način pripravili več kot 50 različnih formatov (23). Med njimi prevladujejo bispecifični, z oznakami kot so dsDb, DART, BiTE, tandAbs itd. (12). Oznake so kratice, ki večinoma izhajajo iz opisa strukture. Tako npr. z dsDb (=disulfide bonds Diabody) opisujemo nekovalentni dimer enoverižnega Fv fragmenta (Diabody, Db), ki je dodatno stabiliziran z disulfidnimi povezavami (ds).

5 SKLEP

Pričakujemo lahko, da se bo razvoj učinkovin, ki izhajajo iz strukture protiteles nadaljeval v smeri večvalentnih formatov z izboljšanimi fizikalno-kemičnimi lastnostmi, ki bi pripeljal do pripravkov, stabilnih pri sobni temperaturi in primernih za npr. transdermalno aplikacijo. V naslednjem desetletju namreč pričakujemo tovrstne učinkovine tako pri že obstoječih tudi pri številnih drugih indikacijah, npr. pri kroničnih neurodegenerativnih boleznih (poleg multiple skleroze, kjer že imamo prve predstavnike, tudi pri Parkinsonovi in Alzheimerjevi bolezni). Tovrstna stanja zahtevajo dolgotrajna zdravljenja in sodelovanje bolnikov, pri čemer klasični parenteralni načini lahko predstavljajo resno oviro.

Po drugi strani utegne razvoj pripeljati tudi do bolj presenettljivih rešitev. Pred kratkim so raziskovalci predstavili rezultate študije na miših s karcinomom, pri katerih so dokazali učinkovito protitumorno delovanje *in vivo* sintetiziranih bispecifičnih protiteles (24). Eksogenemu vnosu protiteles

v organizem so se izognili tako, da so mišim aplicirali spremenjeno mRNA, ki zapisuje ustrezna protitelesa. Če se bo pristop izkazal kot primeren tudi za uporabo na ljudeh, potem bo omogočal, da protitelesa, s katerim želimo bolnika zdraviti, nastajajo kar v njegovem telesu kot rezultat zdravljenja z mRNA, ki ta protitelesa zapisuje.

Ta način prištevamo med gensko zdravljenje, ki ga zakonodaja skupaj s celičnim zdravljenjem in tkivnim inženirstvom uvršča med t.i. napredna zdravljenja. Zdravila za gensko zdravljenje, zdravila za celično zdravljenje in izdelke tkivnega inženirstva (25) nekateri uvrščajo med biološka zdravila. Te skupine so tiste, od katerih v prihodnosti pričakujemo največ.

6 LITERATURA

1. Zakon o zdravilih (ZZdr-2), UL RS št. 17, 7.3.2014, str. 1894.
2. Štrukelj B. Razvoj, delitev in vloga bioloških zdravil. V: Štrukelj B, Kos J. Biološka zdravila: od gena do učinkovine. Slovensko farmacevtsko društvo 2007: 4-24.
3. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256: 495-497.
4. Podatki so zajeti iz baze Evropskih javnih poročil o oceni zdravila (EPAR) v obliki Excelove datoteke, ki jo omogoča sistem in naknadno analizirani. Baza je dosegljiva na spletnem naslovu: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicine_s/landing/epar_search.jsp&mid=WC0b01ac058001d124. Dostop: 29-08-2017.
5. Schwartz RS. Paul Ehrlich's magic bullets. *N Engl J Med* 2004, 350: 1079-1080.
6. Perez HL; Cardarelli PM; Deshpande S et al. Antibody-drug conjugates: current status and future directions. *Drug Discov Today* 2014; 19: 869-881.
7. Lambert JM, Morris CQ. Antibody-Drug Conjugates (ADCs) for Personalized Treatment of Solid Tumors: A Review. *Adv Ther* 2017; 34: 1015-1035.
8. Gao W, Zhang J, Xiang J et al. Recent Advances in Site Specific Conjugations of Antibody Drug Conjugates. *Curr Cancer Drug Targets* 2016; 16: 469-79.
9. FDA approves Mylotarg for treatment of acute myeloid leukemia. FDA News Release, 1.9.2017. <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm574507.htm>. Dostop: 20-09-2017.
10. Sau S, Alsaab HA, Kashaw SK et al. Advances in antibody-drug conjugates: A new era of targeted cancer therapy. *Drug Discov Today*. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2017.05.011>
11. Steiner M, Neri D. Antibody-Radionuclide Conjugates for Cancer Therapy: Historical Considerations and New Trends. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 6406-16.
12. Kontermann R. Dual targeting strategies with bispecific antibodies. *mAbs* 2012; 4: 182-197.
13. Demarest SJ, Hariharan K, Dong J. Emerging antibody combinations in oncology. *mAbs* 2011; 3: 338-351.
14. Fan G, Wang Z, Hao M et al. Bispecific antibodies and their applications. *J Hematol Oncol*. 2015; 8: 130-144.
15. Riethmüller G. Symmetry breaking: bispecific antibodies, the beginnings, and 50 years on. *Cancer Immun*. 2012; 12: 12-19.
16. Rouet R in Christ D. Bispecific antibodies with native chain structure. *Nat Biotechnol* 2014; 32: 136-137.
17. Zhang X, Yang Y, Fan D et al. The Development of bispecific antibodies and their applications in tumor immune escape. *Exp Hematol Oncol* 2017; 6: 12-18.
18. EMA. Povzetek glavnih značilnosti zdravila. http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicine_s/human/medicines/000972/human_med_001024.jsp&mid=WC0b01ac058001d124. Dostop: 29-08-2017.
19. Heiss MM, Murawa P, Koralewski P et al. The trifunctional antibody catumaxomab for the treatment of malignant ascites due to epithelial cancer. *Int J Cancer* 2010; 127: 2209-2221.
20. Linke R, Klein A, Seimetz D. Catumaxomab Clinical development and future directions. *mAbs* 2010; 2: 129-136.
21. EMA. Removab: Withdrawal of the marketing authorisation in the European Union. Public Statement 10. 07. 2017. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Public_statement/human/000972/WC500231226.pdf. Dostop: 29-08-2017.
22. Yang F, Wen W, Qui W. Bispecific Antibodies as a Development Platform for New Concepts and Treatment Strategies. *Int J Mol Sci* 2017; 18: 48; doi:10.3390/ijms18010048.
23. Al Deghaither D, Smaglo BG, Weiner LM. Beyond Peptides and mAbs - Current Status and Future Perspectives for Biotherapeutics with Novel Constructs. *J Clin Pharmacol*. 2015; 55: S4-S20.
24. Stadler CR, Bähr-Mahmud H, Celik L et al. Elimination of large tumors in mice by mRNA-encoded bispecific antibodies. *Nat Med* 2017; 23: 815-817.
25. Uredba ES 1394/2007 Evropskega parlamenta in sveta z dne 13. novembra 2007 o zdravilih za napredno zdravljenje ter o spremembi Direktive 2001/83/ES in Uredbe (ES) št. 726/2004; Člen 2. https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-1/reg_2007_1394/reg_2007_1394_sl.pdf. Dostop: 20-09-2017.