

## STRESZCZENIE

Chłoniaki nieziarnicze są corocznie przyczyną ponad 200 tysięcy zgonów na całym świecie. Pomimo znacznego postępu medycyny i powstawania wielu nowych leków oraz terapii, w tym bardzo ważnego w leczeniu chłoniaków przeciwciała monoklonalnego anty CD20 (Rituximab), wciąż istnieje grupa pacjentów nie odpowiadających na leczenie. Współczesna medycyna potrzebuje nowych celów terapeutycznych, które będą dawały szersze możliwości leczenia. Takim znanym od wielu lat celem przeciwciał wymierzonych w chłoniaki jest MHC klasy II. Białko to odpowiedzialne jest głównie za prezentację antygenów limfocytom T, lecz w momencie sprzęgnięcia przez przeciwciało, może również przekazywać sygnały aktywacyjne i proapoptotyczne. Do tej pory otrzymano już kilka przeciwciał anty-MHC II posiadających duży potencjał do użycia w terapii ludzkich chłoniaków, między innymi Apolizumab czy IMMU-14, lecz żadne z nich nie znalazło się w powszechnym użyciu z powodu niewystarczającej efektywności, bądź zbyt dużych skutków ubocznych w modelach badań przedklinicznych.

Sytuacja jest zupełnie inna w medycynie weterynaryjnej, gdzie aktualnie dopuszczono do stosowania tylko jedno przeciwciało monoklonalne (Lokivetmab - aIL-31) do terapii atopowego zapalenia skóry u psów. Chłoniaki u psów podobnie jak u ludzi są często występującym nowotworem układu limfatycznego. Z racji ograniczenia możliwości stosowania wysokich dawek chemioterapii jest to schorzenie uznawane za nieuleczalne. Ze względu na podobieństwo epidemiologiczne, morfologiczne i kliniczne oraz spontaniczne występowanie chłoniaków u psów stanowią one dobry model do testowania nowych leków i terapii oraz badania mechanizmów rozwoju nowotworu.

Celem pracy było uzyskanie przeciwciał reaktywnych wobec komórek psich chłoniaków, które mogłyby posłużyć zarówno do terapii jak również jako narzędzie diagnostyczne w medycynie weterynaryjnej. Wytworzono dwa przeciwciała - B5 oraz E11 o reaktywności wobec psiej cząsteczki DLA-DR, które następnie poddano analizie ich właściwości biologicznych i potencjału terapeutycznego zarówno in vitro jak i in vivo. Wykazano bezpośrednią oraz zależną od układu immunologicznego aktywność cytotoksyczną obydwu przeciwciał in vitro. Przeciwciała B5 i E11 wywołują apoptozę u około 40% komórek psich linii CLBL1 i CLB70,

nie wywołując efektu w kontrolnych psich liniach komórkowych nie wykazujących ekspresji DLA-DR. Oba przeciwciała wykazują ponad 90% cytotoksyczności w teście z dopełniaczem oraz indukują około 10% fagocytozy komórek nowotworowych. Doświadczenia in vivo na modelu mysim wykazały, że przeciwciało B5 oraz jego koniugat z metotreksatem znacząco spowalniają rozwój nowotworu w modelu rozsianego chłoniaka z dużych rozlanych komórek typu B (DLBCL) u myszy NOD-SCID.

Przeciwciała B5 i E11 wykorzystano również do wytworzenia testu ELISA umożliwiającego określenie poziomu DLA-DR zarówno w bioptatach z węzłów chłonnych, liniach komórkowych oraz płynach ustrojowych. Wykazano, że istnieje zależność między ilością komórek nowotworowych, a ilością rozpuszczalnego DLA-DR w surowicy krwi myszy z przeszczepionym psim chłoniakiem, a także podwyższenie poziomu tej cząsteczki w surowicy psów chorych na chłoniaka B-komórkowego w porównaniu do psów zdrowych.