

Immunologia terapii anti-CD20: od mechanizmów działania po zastosowania kliniczne

Immunology of anti-CD20 therapies: from mechanisms to clinical applications

Centrum Innowacyjnej Edukacji Medycznej, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków, Polska

Adres do korespondencji: Kamila Żur-Wyrozumska, Centrum Innowacyjnej Edukacji Medycznej, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 7, 30-688 Kraków, e-mail: kamila.zur-wyrozumska@uj.edu.pl

 <https://doi.org/10.15557/AN.2025.0017>

ORCID iD

Kamila Żur-Wyrozumska  <https://orcid.org/0000-0001-9214-3022>

Streszczenie

Limfocyty B to wyspecjalizowane leukocyty odgrywające ważną rolę w nabytej odpowiedzi immunologicznej, która w odróżnieniu od odporności wrodzonej charakteryzuje się swoistością i pamięcią. Limfocyty B mediują odporność humoralną ukierunkowaną na patogeny zewnątrzkomórkowe, podczas gdy limfocyty T są przydatne w niszczeniu antygenów wewnątrzkomórkowych i pełnią funkcje regulacyjne. Różnicowanie limfocytów B rozpoczyna się od hematopoetycznych komórek macierzystych (*hematopoietic stem cell*, HSC), które znajdują się w szpiku kostnym i są zdolne do wytwarzania wszystkich komórek krwi. HSC różnicują się na linię mieloidalną i limfoidalną, dając początek limfocytom B i T. Podczas rozwoju limfocyty B nabywają receptory specyficzne dla antygenów (*B-cell receptor*, BCR) oraz ekspresję CD20 – kluczowego antygeny powierzchniowego wykorzystywanego w identyfikacji i celowaniu terapeutycznym. Przeciwciała monoklonalne przeciwko CD20 stanowią podstawę leczenia stwardnienia rozsianego. Mechanizm ich działania opiera się na deplecji limfocytów B, modulacji odpowiedzi immunologicznej i zmniejszeniu aktywności choroby. Terapie anti-CD20, takie jak okrelizumab, ofatumumab, rytuksymab i ublituksymab, różnią się specyfiką wiązania, budową molekularną, właściwościami farmakokinetycznymi i drogą podania, co wpływa na ich skuteczność i profil bezpieczeństwa. CD20 występuje również w rzadkiej podgrupie limfocytów T o unikalnych właściwościach prozapalnych, co wskazuje na jego różnorodne role immunologiczne. Niniejszy przegląd omawia biologię limfocytów CD20+, mechanizmy działania terapii anti-CD20 oraz ich zastosowania w SM. Analizuje niuanse związane z ich skutecznością, immunogennością i działaniami niepożądanymi, w tym neutropenią i wtórnymi zaburzeniami immunologicznymi, dostarczając wskazówek dla spersonalizowanych strategii terapeutycznych.

Słowa kluczowe: stwardnienie rozsiane, limfocyt, przeciwciała monoklonalne

Abstract

B lymphocytes are specialised leukocytes essential to the adaptive immune response, characterised by specificity and memory, in contrast to innate immunity. They mediate humoral immunity by targeting extracellular pathogens, while T lymphocytes are pivotal in intracellular antigen destruction and immune regulation. The differentiation of B cells begins with hematopoietic stem cells (HSCs), pluripotent cells in the bone marrow that generate all blood cell lineages. HSCs differentiate into myeloid and lymphoid lineages, giving rise to B and T lymphocytes. During development, B cells acquire antigen-specific receptors (B-cell receptor, BCR) and express CD20, a key surface antigen critical for their identification and therapeutic targeting. Monoclonal antibodies against CD20 are a cornerstone of multiple sclerosis treatment. They deplete B cells, modulate immune responses, and reduce disease activity. Anti-CD20 therapies, including ocrelizumab, ofatumumab, rituximab, and ublituximab, vary in binding site specificity, molecular structure, pharmacokinetics, and administration routes, impacting their efficacy and safety profiles. CD20 is also expressed in a rare subset of T cells with unique pro-inflammatory properties, highlighting its diverse immunological roles. This review explores the biology of CD20-positive lymphocytes, the mechanisms of action of anti-CD20 therapies, and their applications in multiple sclerosis. It discusses the nuances of efficacy, immunogenicity, and adverse effects, including neutropenia and secondary immune dysregulation, providing insights into personalised therapeutic strategies.

Keywords: multiple sclerosis, lymphocyte, monoclonal antibodies

WPROWADZENIE

Limfocyty są wyspecjalizowanymi leukocytami nabytej odpowiedzi immunologicznej. Odpowiedź nabyta, w przeciwieństwie do odpowiedzi wrodzonej, charakteryzuje się swoistością i pamięcią. Limfocyty B odpowiadają za odporność humoralną, której celem jest niszczenie patogenów zewnątrzkomórkowych. Limfocyty T odgrywają zasadniczą rolę w niszczeniu antygenów wewnątrzkomórkowych i, co jest krytyczne w procesach immunizacyjnych, pełnią funkcje regulacyjne (Żur-Wyrozumska, 2024).

Ścieżkę powstawania limfocytów rozpoczyna hematopoetyczna komórka macierzysta (*hematopoietic stem cell*, HSC), czyli pierwotna komórka wytwarzająca wszystkie elementy morfotyczne krwi (erytrocyty, leukocyty i płytki krwi). HSC znajdują się głównie w szpiku kostnym, są pluripotencjalne, długowieczne i zdolne do samoodnowy (Dzierzak *et al.*, 2018).

Komórki te podlegają różnicowaniu się w linie:

- mieloidalną: erytrocyty, granulocyty (neutrofile, bazofile, eozynofile), monocyty, megakariocyty (produkują płytki krwi);
- limfoidalną: limfocyty T, limfocyty B, komórki NK.

Komórki HSC znajdują się w specyficznym mikrośrodku szpiku kostnego, który reguluje ich funkcje, w tym równowagę pomiędzy stanem spoczynku i aktywności. Dostarcza on sygnałów troficznych (np. czynniki wzrostu, cytokiny) i chroni HSC przed stresem środowiskowym. HSC mają również zdolność migracji między szpikiem kostnym a krwiobiegiem w procesie znanym jako mobilizacja i *homing* (Dzierzak *et al.*, 2018).

Zdolność HSC do samoodnowy zapewnia utrzymanie puli komórek macierzystych w szpiku kostnym przez całe życie organizmu (Dzierzak *et al.*, 2018).

ROZWÓJ LIMFOCYTÓW B

Komórki pro-B przechodzą proces rearanżacji genów kodujących receptory immunoglobulinowe i przekształcają się w komórki pre-B. To właśnie tu w późniejszych etapach różnicowania, kiedy to posiadają już funkcjonalne łańcuchy ciężkie immunoglobulin, które będą częścią receptora BCR (*B-cell receptor*, odgrywa kluczową rolę w rozpoznawaniu antygenów i aktywacji limfocytów B), pojawiają się antygeny różnicowania (*cluster of differentiation*, CD) CD20. W kolejnym stadium dojrzałe limfocyty B (naiwne B), u których stwierdza się wysoką ekspresję CD20, opuszczają szpik i migrują do wtórnych narządów limfatycznych, gdzie w reakcji na antygeny ulegają aktywacji.

Długowieczne i zdolne do natychmiastowej odpowiedzi na wtórny kontakt z antygenem komórki B pamięci również posiadają CD20 na swojej powierzchni.

Kolejne stadium plazmoblasty i odpowiedzialne za produkcję przeciwciał komórki plazmatyczne tracą CD20 (LeBien *et al.*, 2008).

Podsumowując, antygen CD20 nie jest obecny na początkowych i końcowych stadiach różnicowania limfocytów B. Pojawia się w późnym stadium pre-B, osiąga szczytową ekspresję na dojrzałych limfocytach B, a następnie zanika podczas różnicowania do komórek plazmatycznych.

LIMFOCYTY T I CD20

Limfocyty T rozwijają się z komórek progenitorowych w grasicy, gdzie przechodzą aranżację genów TCR (receptor limfocytu T). Następnie przechodzą proces selekcji w grasicy, w wyniku którego powstają dojrzałe limfocyty T CD4 i CD8 (Krause *et al.*, 1996).

Limfocyty T CD20 są rzadko spotykanym podtypem limfocytów T zarówno CD4, jak i CD8. Zazwyczaj występują na komórkach efektorowych i pamięci. W porównaniu z klasycznymi limfocytami charakteryzują się zwiększoną aktywnością cytotoksyczną oraz zdolnością do wydzielania dużej ilości prozapalnych cytokin, takich jak interferon gamma (IFN- γ) i czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF- α). Antygen CD20 pojawia się po opuszczeniu limfocytów grasicy, po ich aktywacji przez antygen w obwodowych narządach limfatycznych (van Langelaar *et al.*, 2020). Limfocyty T CD20 najprawdopodobniej powstają w stanie zapalnym, infekcjach lub chorobach nowotworowych w wyniku aktywacji specyficznych szlaków sygnalizacyjnych w limfocytach T. Wśród czynników mogących wpływać na różnicowanie limfocytów T CD20 są cytokiny prozapalne (IL-2, IFN- γ czy TNF- α), intensywna i długotrwała ekspozycja na antygeny oraz zmiany epigenetyczne (van Langelaar *et al.*, 2020). W stwardnieniu rozsianym (łac. *sclerosis multiplex*, SM) wykazano zwiększoną liczbę limfocytów T CD20 w zmianach zapalnych w ośrodkowym układzie nerwowym (van Langelaar *et al.*, 2020).

ANTYGEN CD20

CD20 jest białkiem transbłonowym należącym do rodziny białek MS4A (*membrane-spanning 4-domains family*) zlokalizowanym na powierzchni limfocytów. Składa się z 297 aminokwasów i zawiera cztery hydrofobowe domeny transbłonowe, które umożliwiają kotwiczenie w błonie komórkowej, domenę wewnątrzkomórkową i dwie pętle zewnątrzkomórkowe. CD20 uczestniczy w kontroli przepływu jonów wapnia (Ca²⁺) przez błonę komórkową, co jest kluczowe dla aktywacji i proliferacji limfocytów B poprzez aktywację receptora BCR (Pavlasova *et al.*, 2020).

TERAPIE ANTY-CD20 W STWARDNIENIU ROZSIANYM

W chwili obecnej w terapii SM dysponujemy kilkoma molekułami anti-CD20. Sa to: okrelizumab, ofatumumab, ublituksymab i stosowany *off-label* rytuksymab.

Przeciwciała anti-CD20 można podzielić na dwa typy w zależności od sposobu ich wiązania z cząsteczką docelową. Większość

dostępnych przeciwciał, w tym wszystkie powyższe, zalicza się do typu I. Charakteryzują się one zdolnością do indukowania translokacji CD20 w błonie komórkowej oraz tworzenia dużych domen lipidowych, określanych jako „tratwy lipidowe”. Powstawanie tych struktur sprzyja intensyfikacji aktywacji układu dopełniacza, co czyni przeciwciała typu I wysoce efektywnymi w indukowaniu cytotoksyczności zależnej od dopełniacza (*complement-dependent cytotoxicity*, CDC) (Klein *et al.*, 2013). Przeciwciała typu I wiążą się pomiędzy tetramerami CD20, natomiast przeciwciała typu II mogą wiązać się w obrębie jednego tetrameru, co wpływa na ich mechanizm działania. W porównaniu z przeciwciałami typu I przeciwciała typu II wykazują znacznie słabszą aktywność CDC, ale jednocześnie silniej indukują bezpośrednią śmierć komórek, której mechanizm jest złożony i obejmuje reorganizację błony komórkowej, stres oksydacyjny, elementy apoptozy oraz alternatywne szlaki śmierci komórkowej, takie jak nekroptoza (Honeychurch *et al.*, 2012).

Wszystkie przeciwciała anti-CD20 aktywują cytotoksyczność komórkową zależną od przeciwciał (*antibody-dependent cellular cytotoxicity*, ADCC). Jest to mechanizm działania układu odpornościowego, w którym komórki efektorowe niszczą komórki docelowe oznaczone przez specyficzne przeciwciała. Fragment Fab przeciwciała rozpoznaje i wiąże antygen, podczas gdy fragment Fc pozostaje wolny. Wiązanie fragmentu Fc przeciwciała z receptorem FcγR na komórce efektorowej (komórki NK, makrofagi, monocyty, eozynofile) aktywuje ją.

W wyniku aktywacji komórka efektorowa zaczyna wydelać substancje cytotoksyczne (perforyny, granzymy) (Glennie *et al.*, 2007).

Cytotoksyczność zależna od dopełniacza (CDC) to proces, w którym układ dopełniacza niszczy komórki docelowe poprzez aktywację drogi klasycznej w odpowiedzi na obecność przeciwciał związanych z powierzchnią tych komórek. Dochodzi do powstania kompleksu atakującego błonę (*membrane attack complex*, MAC). MAC wbudowuje się w błonę komórkową komórki docelowej, tworząc pory, co prowadzi do napływu wody i jonów do wnętrza komórki i jej lizy. CDC w przeciwieństwie do ADCC nie wymaga obecności komórek efektorowych, pozawala na podanie mniejszej dawki leku i w mniejszym stopniu zależy od gęstości antygeny na powierzchni komórki, w tym przypadku CD20 (Glennie *et al.*, 2007).

Zarówno okrelizumab, jak i rytuksymab są ukierunkowane na bardzo podobne i nakładające się epitopy CD20 wokół reszt aminokwasowych 165–180 na dużej pętli zewnątrzkomórkowej. Różnice w pierwotnym mechanizmie ich działania wynikają natomiast z różnic w regionie Fc tych dwóch przeciwciał, które w przypadku okrelizumabu mają większe powinowactwo do FcγRIIIa. Jest to istotne, ponieważ FcγRIIIa, obecny na komórkach NK, makrofagach i monocytach, jest kluczowy dla aktywacji mechanizmu ADCC (Chisari *et al.*, 2022; Teeling *et al.*, 2004).

Ofatumumab oprócz dużej pętli zewnątrzkomórkowej wiąże się z małą, odsłoniętą zewnętrzną pętlą cząsteczki CD20,

położoną bliżej błony komórkowej niż inne epitopy CD20. Wiązanie z małą pętlą wykazuje zdolności do indukowania przez kompleks dopełniacza MAC lizy komórkowej, co może tłumaczyć wyższą aktywność ofatumumabu w indukowaniu CDC.

Ponadto przyłączenie do epitopu położonego bliżej błony komórkowej prowadzi do wolniejszego tempa odłączania się (*off-rate*) przeciwciała, a w konsekwencji wzrostu skuteczności litycznej przy niskiej dawce ekspozycyjnej (Hauser *et al.*, 2023; Pacheco-Fernandez *et al.*, 2018; Teeling *et al.*, 2004; Touil *et al.*, 2019).

Ublituksymab wiąże epitopy na dużej pętli zewnątrzkomórkowej, które częściowo pokrywają się z epitopami ofatumumabu, rytuksymabu i okrelizumabu. Dzięki zastosowaniu glikoinżynierii w regionie Fc ublituksymab wyróżnia się wyjątkowo silną aktywnością ADCC. Modyfikacje te pozwalają na zwiększenie powinowactwa do receptorów FcγRIIIa, nawet w przypadku polimorfizmu FcγRIIIa 158F, który zwykle obniża skuteczność wiązania przeciwciał. Polimorfizm 158V/F wpływa na powinowactwo receptora FcγRIIIa do fragmentu Fc przeciwciała:

- **158V** – jest wariantem wysokiego powinowactwa, który wykazuje lepszą zdolność do wiązania przeciwciał i aktywacji komórek efektorowych, co prowadzi do bardziej efektywnej ADCC.
- **158F** – jest wariantem niskiego powinowactwa, związanym z niższą skutecznością wiązania FcγRIIIa i gorszą aktywnością ADCC w przypadku standardowych przeciwciał.

Ublituksymab wykazuje 16–25 razy wyższe powinowactwo do wariantu 158V oraz 10–22 razy wyższe powinowactwo do wariantu 158F w porównaniu z rytuksymabem, okrelizumabem i ofatumumabem. To zwiększone powinowactwo pozwala na silną aktywację mechanizmu ADCC, niezależnie od wariantu polimorfizmu receptora FcγRIIIa (Bar-Or *et al.*, 2021; Foley *et al.*, 2023; Pereira *et al.*, 2018).

PRZECIWCIAŁA PRZECIWKO LEKOM (ADA)

Przeciwciała terapeutyczne różnią się stopniem udziału fragmentów obcogatunkowych, co wpływa na skuteczność i immunogenność. Ważnym aspektem stosowania terapii biologicznych jest powstawanie przeciwciał przeciwko leкови (*antidrug antibodies*, ADA), czyli przeciwciał produkowanych przez układ odpornościowy pacjenta w odpowiedzi na podanie leku biologicznego. Szczególną postacią ADA są przeciwciała neutralizujące (*neutralizing antibodies*, NAbs). Nabs blokują funkcję terapeutyczną leku, wiążąc się z jego miejscem aktywnym lub zmieniając jego strukturę. Czynniki wpływające na powstawanie ADA to udział fragmentów obcych gatunkowo, obecność zanieczyszczeń w preparacie (np. agregaty białkowe) czy czystość, dawka i droga podania (istnieją dane mogące wskazywać na to, że leki podawane dożylnie są mniej immunogenne niż te podawane podskórnie). Wiązanie ADA z lekiem może przyspieszać jego eliminację, zmniejszając

stężenie leku we krwi (Gasperi *et al.*, 2016; Glennie *et al.*, 2007).

Przeciwciała chimeryczne składają się z ludzkiej części stałej (region Fc) (około 65–70%) i mysiej części zmiennej (region Fab odpowiadający za rozpoznawanie antygeny). Przykładem takiego przeciwciała jest rytuksymab.

Przeciwciała chimeryczne glikozylowane to szczególnie rodzaj przeciwciał chimerycznych, które poddano modyfikacji w celu zwiększenia ich skuteczności, zwłaszcza w mechanizmach ADCC. Modyfikacja glikozylacji wpływa na zdolność regionu Fc przeciwciała do wiązania się z receptorami FcγR na komórkach efektorowych, poprawia stabilność przeciwciała oraz zmniejsza immunogenność. Przykładem jest ublituksymab.

Przeciwciała humanizowane to przeciwciała, w których większość struktury (około 90–95%) jest ludzka, a mysie są tylko niewielkie fragmenty odpowiedzialne za rozpoznanie antygeny (CDR). Przykładem jest okrelizumab.

Przeciwciała w pełni ludzkie charakteryzują się bardzo niskim ryzykiem immunogenności. Przykładem jest ofatumumab, który w chwili obecnej jest jedynym w pełni ludzkim przeciwciałem IgG1 dopuszczonym do stosowania w postaciach rzutowych SM i prawdopodobnie z tego powodu charakteryzuje się niższą immunogennością (Delgado *et al.*, 2024).

W badaniu przekrojowym przeciwciała przeciwekowe (ADA) przeciwko rytuksymabowi wykryto u 37% pacjentów z rzutową postacią SM i u 26% pacjentów z postępującą postacią choroby, a ich obecność wiązała się ze zmniejszoną eliminacją limfocytów B, ale nie ze zdarzeniami niepożądanymi lub niższą skutecznością (Dunn *et al.*, 2018).

Dla ublituksymabu w postaci rzutowej SM odnotowano obecność ADAs u 86,5% i Nabs u 6,4% pacjentów (wyniki z fazy III badania ULTIMATE). Powstawanie ADA i Nab było związane z leczeniem i osiągało szczyt w 24. tygodniu, a następnie malało. Nie wykazano jednak zauważalnego wpływu na zmniejszenie liczby limfocytów B, bezpieczeństwo lub skuteczność terapii i nie stwierdzono związku z różnicami w wyjściowych cechach uczestników (takich jak wiek, płeć, rasa, wskaźnik masy ciała itp.). Zgłoszone wskaźniki występowania ADA u pacjentów leczonych ublituksymabem są wyższe, niż oczekiwano, co może częściowo wynikać z zastosowanej metody oznaczania ilościowego ADA (test elektrochemoluminescencyjnego ECL). W innych badaniach oceniających leki anti-CD20 ADA mierzono za pomocą jakościowego testu radioimmunologicznego, który może potencjalnie zaniżyć poziom ADA (Martin *et al.*, 2024).

W przypadku okrelizumabu faza III badania ORATORIO dotycząca postaci pierwotnie postępującej SM wykazała występowanie ADA u 1,9% (9/486) pacjentów i Nabs u 0,2% chorych (Montalban *et al.*, 2017). Podobnie w fazie III badania OPERA I i II w postaci rzutowej stwierdzono, że ADA i Nab rozwinęły się odpowiednio u 0,4% (3/825) i 0,1% (1/825) pacjentów (Hauser *et al.*, 2017).

W dwóch badaniach ASCLEPIOS u dwóch z 914 (0,2%) pacjentów z rzutowo-remisyjną SM, którzy otrzymywali

ofatumumab, uzyskano wynik pozytywny na obecność ADA. Nie wykryto przeciwciał neutralizujących. Liczba pacjentów była niewystarczająca, aby zbadać wpływ ADA na bezpieczeństwo i skuteczność (Hauser *et al.*, 2020).

Co istotne klinicznie, opisano przypadki choroby posurowiczej u pacjentów leczonych okrelizumabem (Al-Araji *et al.*, 2021; Mantero *et al.*, 2024; Moreira Ferreira *et al.*, 2021; Rjeily *et al.*, 2023). Choroba posurowicza jest reakcją nadwrażliwości typu III (odpowiedź immunologiczna związana z odkładaniem kompleksów immunologicznych w tkankach). Występuje po wprowadzeniu do organizmu obcego białka (np. surowicy, leków, przeciwciał monoklonalnych). Objawy choroby posurowiczej pojawiają się zwykle 7–14 dni po ekspozycji na czynnik wywołujący. Objawy mogą obejmować gorączkę, zmęczenie, osłabienie. Na skórze pojawia się pokrzywka, zwykle swędząca, lub rumień. Towarzyszą temu bóle mięśni i stawów oraz obrzęki stawów, a także powiększenie węzłów chłonnych. Mogą również występować objawy z układu pokarmowego, moczowego czy sercowo-naczyniowego. Zjawisko *wearing-off*, czyli nasilenia objawów związanych z SM przed przyjęciem kolejnej dawki, co jest tłumaczone skracaniem czasu aktywności terapeutycznej leku, jest również raportowane u pacjentów leczonych okrelizumabem (Marian *et al.*, 2024; Monteiro *et al.*, 2024; Seferoğlu *et al.*, 2024; Toorop *et al.*, 2022). Kolejną kwestią jest problem leków biopodobnych stosowanych po sobie w kontekście uprzednio powstających ADA.

DROGI PODAWANIA LEKÓW

Drogi podawania leków biologicznych wiążą się z różnymi konsekwencjami klinicznymi. Podskórne podawanie przeciwciał anti-CD20 powoduje ich bezpośrednią i zwiększoną penetrację do węzłów chłonnych (Migotto *et al.*, 2019; Torres *et al.*, 2022). W węzłach chłonnych właśnie patogenne limfocyty B i T oddziałują na siebie przed migracją do mózgu. Wstrzyknięcie podskórne powoduje podobny poziom wyczerpania krążącej i zlokalizowanej w węzłach chłonnych małej liczby limfocytów CD20 w porównaniu z podawaniem dużych dawek dożylnie (Torres *et al.*, 2022). Ponadto podanie podskórne małych dawek jest klinicznie związane ze zmniejszoną liczbą reakcji związanych z podaniem (Bar-Or *et al.*, 2021).

TEMPO DEPLECJI LIMFOCYTÓW

Faza II/III badania OLYMPUS wykazała szybkie, >95-procentowe usunięcie komórek B CD19 dwa tygodnie po pierwszej infuzji 1000 mg rytuksymabu, który to poziom utrzymywał się do końca badania (tydzień 96.) (Hawker *et al.*, 2009). W III fazie badania ORATORIO oraz OPERA potwierdzono, że populacja komórek B CD19 została prawie całkowicie wyczerpana dwa tygodnie po podaniu pierwszej dawki okrelizumabu i pozostawała na tym poziomie przez pozostałą część 216-tygodniowej obserwacji (Hauser *et al.*, 2017; Montalban *et al.*, 2017).

W badaniach ASCLEPIOS, APLIOS i APOLITOS, w których podawano podskórnie ofatumumab w dawce 20 mg, stwierdzono trwale zmniejszenie liczby limfocytów B po 1–2 tygodniach (Hauser *et al.*, 2020; Kira *et al.*, 2022). Podczas badania fazy II APOLITOS zmniejszenie liczby limfocytów B poniżej DGN obserwowano u wszystkich pacjentów w dniu 7. terapii i utrzymywało się ono przez 24 tygodnie obserwacji (Kira *et al.*, 2022).

W badaniu II fazy dotyczącym dożylnego podawania ublituksymabu u większości pacjentów w ciągu 24 godzin od pierwszego wlewu (150 mg) doszło do wyczerpania liczby limfocytów B CD19 (Steinman *et al.*, 2022).

REPLECJA LIMFOCYTÓW

Wykazano, że limfocyty B regenerują się w ciągu 24–36 tygodni (mediana 24,6 tygodnia) po odstawieniu ofatumumabu podawanego podskórnie (20 mg) (Cotchett *et al.*, 2021), w ciągu 27–175 tygodni (mediana 72 tygodnie) po odstawieniu okrelizumabu i w ciągu 12–16 miesięcy po odstawieniu rytuksymabu u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów (Delgado *et al.*, 2024; Ellrichmann *et al.*, 2019).

Średni czas powrotu liczby komórek B CD19 do wartości wyjściowych dla ublituksymabu wyniósł 70,3 tygodnia (zakres 0,1–75,1 tygodnia) (Martin *et al.*, 2024). Wlewy dożylnie dużych dawek ofatumumabu (100, 300 lub 700 mg) wiązały się ze średnim czasem replacji wynoszącym 48 tygodni (Sorensen *et al.*, 2014).

HIPOGAMMAGLOBULINEMIA

Stosowanie terapii anti-CD20 może osłabiać odpowiedź immunologiczną pacjentów i zwiększać podatność na infekcje. Czynnikiem ryzyka infekcji jest niedobór immunoglobulin w klasie IgG, natomiast niedobór immunoglobulin w klasie IgM stanowi czynnik ryzyka niedoboru klasy IgG.

Sześcioletnia ocena pacjentów leczonych okrelizumabem wykazała, że zmniejszenie poziomu Ig w surowicy było związane ze zwiększonym ryzykiem poważnych infekcji (Derfuss *et al.*, 2019).

Natomiast w badaniach klinicznych nie wykazano spadku immunoglobulin w klasie IgG u pacjentów leczonych ublituksymabem i ofatumumabem, co korelowało z niską częstością występowania infekcji (Martin *et al.*, 2024; Sorensen *et al.*, 2014).

Wystąpienie czterech lub więcej infekcji rocznie wymagających antybiotykoterapii, infekcji o ciężkim przebiegu (np. zapalenia płuc, zapalenia mózgu, posocznicy), konieczności stosowania antybiotykoterapii powyżej dwóch miesięcy u pacjenta leczonego lekami z grupy anti-CD20 z hipogammaglobulinemią IgG <400 mg/dl pozwala na rozpoznanie wtórnych niedoborów odporności (WNO) i zastosowanie suplementacji immunoglobulin (Bryniarski, 2018).

NEUTROPENIA

Stosowanie terapii anti-CD20 wiąże się z niewielkim, ale istotnym ryzykiem neutropenii, której przyczyny wynikają z różnych mechanizmów biologicznych. Jednym z głównych mechanizmów jest deplecja limfocytów B, które produkują kluczowe czynniki wzrostu, takie jak GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) i G-CSF (*granulocyte colony-stimulating factor*), niezbędne dla prawidłowej granulopoezy i rozwoju neutrofilii. Trwała deplecja limfocytów B, szczególnie subpopulacji naiwnych i pamięciowych, prowadzi do zaburzeń homeostazy hematopoezy w szpiku kostnym, przekierowując ją na regenerację limfocytów B (Fernández-Velasco *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2015). Proces ten jest wzmocniony przez wysokie poziomy czynnika aktywacji limfocytów B (*B-cell activating factor*, BAFF), który wspiera odbudowę limfocytów kosztem granulopoezy. Zjawisko to, określane jako dyskrazja immunologiczna, jest istotnym czynnikiem sprzyjającym neutropenii (Galli *et al.*, 2019).

Neutropenia może być również efektem nadmiernej aktywacji ADCC przez neutrofile, które eliminują komórki docelowe (Weng *et al.*, 2010) lub wynikać z powstawania autoprzeciwciał przeciw neutrofilom (Voog *et al.*, 2003). Kolejnym ważnym mechanizmem jest zużycie neutrofilii w trakcie infekcji (Baker *et al.*, 2023) lub w wyniku działań niepożądanych związanych z terapią antybiotykową (np. beta-laktamy mogą hamować granulopoezę) (Hahn *et al.*, 2016).

Możliwe jest również, że mechanizmy takie jak trogocytostaza CD20, czyli przeniesienie fragmentów błony komórkowej oraz związanych z nią białek, w tym przypadku CD20, z jednej komórki do drugiej w wyniku bezpośredniego kontaktu, oraz ekspansja dużych ziarnistych limfocytów T wpływają na apoptozę neutrofilii poprzez interakcje Fas/Fasligand (Vakrakou *et al.*, 2018).

Ryzyko neutropenii różni się w zależności od rodzaju leku, jego dawki oraz drogi podania:

- Ofatumumab (20 mg s.c. co cztery tygodnie):
 - W przypadku SM neutropenia występuje rzadziej (0,3%, zwykle ≤ 2 . stopnia, tj. 1500/ μ l) w porównaniu z innymi przeciwciałami anti-CD20, co wynika z podskórnej drogi podania i niższych dawek leku (Baker *et al.*, 2023).
 - W onkologii przy wysokich dawkach (1000 mg i.v. co cztery tygodnie) ofatumumab znacząco zwiększa ryzyko neutropenii (van Oers *et al.*, 2019).
- Okrelizumab (600 mg i.v. co 24 tygodnie):
 - Częstość neutropenii ≥ 2 . stopnia wynosi 4,4–4,6% (Hammer *et al.*, 2022), co jest związane z dożylną drogą podania i większym obciążeniem dawkami.
- Rytuksymab (1000 mg i.v. co 24 tygodnie):
 - Ryzyko neutropenii porównywalne z okrelizumabem. U pacjentów leczonych rytuksymabem w chorobach neurozapalnych ryzyko wynosi około 4–5% ≥ 2 . stopnia (Hammer *et al.*, 2022).

Cechy	Rytuksymab	Okrelizumab	Ofatumumab	Ublituksymab
Rodzaj przeciwciała	Chimeryczne (mysio-ludzkie)	Humanizowane	W pełni ludzkie	Chimeryczne – glikozylowane
Typ wiązania CD20	Typ I	Typ I	Typ I	Typ I
Udział mechanizmów deplecji	CDC: wysoki ADCC: umiarkowany DCD: niski	ADCC: wysoki CDC: umiarkowany DCD: niski	CDC: bardzo wysoki ADCC: umiarkowany DCD: niski	ADCC: bardzo wysoki CDC: umiarkowany DCD: minimalny
Droga podania	Dożylnie (1000 mg co 24 tygodnie)	Dożylnie (600 mg co 24 tygodnie) Podskórnie (920 mg co 24 tygodnie)	Podskórnie (20 mg co 4 tygodnie)	Dożylnie (450 mg co 24 tygodnie)
Czas do deplecji komórek B	2 tygodnie	2 tygodnie	1–2 tygodnie	24 godziny
Czas replacji komórek B	12–16 miesięcy	27–175 tygodni	24–36 tygodni	Średnio 70 tygodni
Immunogenność (ADA)	Wysoka (ADA u 26–37% pacjentów)	Niska (ADA u 0,4–1,9% pacjentów)	Bardzo niska (ADA u 0,2% pacjentów)	Umiarkowana (ADA u 86,5%, Nabs u 6,4%)
Ryzyko neutropenii	~4–5% ≥2. stopnia	4,4–4,6% ≥2. stopnia	0,3% (zwykle ≤2. stopnia)	3,3% ≥2. stopnia
Profil bezpieczeństwa	Reakcje związane z infuzją, choroba posurowicza	Hipogammaglobulinemia, infekcje, choroba posurowicza	Minimalne reakcje, niskie ryzyko infekcji	Niskie ryzyko infekcji, umiarkowana immunogenność
Zastosowanie	<i>Off-label</i> w SM	PPSM, RRSM	RRSM	RRSM
Uwagi	Silna aktywacja CDC dzięki translokacji CD20 do tratw lipidowych; umiarkowane ADCC, zależne od zdolności wiązania regionu Fc z receptorem FcγRIIIa	Umiarkowane działanie CDC i ADCC	Wiąże zarówno dużą, jak i małą pętlę zewnątrzkomórkową CD20, co wzmacnia CDC poprzez stabilny kompleks antygen–przeciwciało	Glikoinżynieria regionu Fc zwiększa powinowactwo do FcγRIIIa (16–25 razy wyższe niż inne przeciwciała)
<p>ADA – <i>antidrug antibodies</i>, przeciwciała przeciwko lekowi; ADCC – <i>antibody-dependent cellular cytotoxicity</i>, cytotoksyczność komórkowa zależna od przeciwciała; CDC – <i>complement-dependent cytotoxicity</i>, cytotoksyczność zależna od dopełniacza; DCD – <i>direct cell death</i>, bezpośrednia śmierć komórkowa indukowana przez przeciwciało anti-CD20; Nabs – <i>neutralizing antibodies</i>, przeciwciała neutralizujące; PPSM – pierwotnie postępująca postać stwardnienia rozsianego; RRSM – rzutowo-remisyjna postać stwardnienia rozsianego.</p>				

Tab. 1. Porównanie terapii anti-CD20. Opracowano na podstawie: Cotchett et al., 2021; Delgado et al., 2024; Hauser et al., 2017, 2023; Hawker et al., 2009; Kira et al., 2022; Martin et al., 2024; Steinman et al., 2022 oraz Charakterystyk Produktów Leczniczych: MabThera (rytuksymab); Ocrevus (okrelizumab); Kesimpta (ofatumumab); Briumvi (ublituksymab)

- Ublituksymab (450 mg *i.v.* co 24 tygodnie):
 - Ryzyko neutropenii wynosi 3,3% ≥2. stopnia, jest nieco niższe niż dla okrelizumabu, ale wyższe niż dla ofatumumabu (Steinman *et al.*, 2022).

Wydłużenie odstępów pomiędzy dawkami poprzez zmniejszenie ekspozycji na leki przy jednoczesnym utrzymaniu skuteczności i ograniczeniu spadku poziomu immunoglobulin może być skuteczną metodą leczenia neutropenii (Baker *et al.*, 2023; Schuckmann *et al.*, 2023).

Neutropenia indukowana lekami anti-CD20 zazwyczaj ma charakter krótkotrwały, trwa 2–4 tygodnie, i dobrze reaguje na leczenie, takie jak szerokospektralne antybiotyki (w pierwszym rzucie amoksycylina z kwasem klawulanowym lub chemioterapeutyk kotrimoksazol) czy rekombinowany G-CSF (Rossi *et al.*, 2022). W niektórych przypadkach, przy braku regeneracji indukowanej cytokinami, neutropenia może utrzymywać się przez wiele miesięcy (Moore, 2016).

PODSUMOWANIE

Wybór leczenia powinien uwzględniać aspekty związane ze skutecznością, bezpieczeństwem i jakością życia pacjenta. Poniższe dane wskazują na istotne różnice między terapiami anti-CD20 stosowanymi w SM. Pełne porównanie tych terapii znajduje się w tab. 1. Ważnym argumentem w doborze leczenia jest elastyczność terapii, obciążenie leczeniem i wpływ

na styl życia pacjenta. Coraz dokładniejsze dane pozwalają nam, lekarzom bezpośrednio zaangażowanym w takie wybory, dokonywać ich z coraz większą skutecznością.

Konflikt interesów

Autor niniejszego artykułu oświadcza, że artykuł został przygotowany we współpracy z firmą Novartis, która zapewniła wsparcie finansowe na jego opracowanie i publikację. Wszelkie opinie, interpretacje i wnioski zawarte w artykule są niezależne i oparte na doświadczeniu naukowym autora.

Wkład autorów

Koncepcja i projekt badania; gromadzenie i/lub zestawianie danych; analiza i interpretacja danych; napisanie artykułu; krytyczne zrecenzowanie artykułu; zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu: KŻW.

Piśmiennictwo

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S: Cellular and Molecular Immunology. 8th ed., Elsevier Saunders, Philadelphia 2014.
- Al-Araji S, Ciccarelli O: A possible case of serum sickness after ocrelizumab infusion – commentary. *Mult Scler* 2021; 27: 158–159.
- Baker D, Kang AS, Giovannoni G *et al.*: Neutropenia following immune-depletion, notably CD20 targeting, therapies in multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord* 2023; 82: 105400.
- Bar-Or A, O'Brien SM, Sweeney ML *et al.*: Clinical perspectives on the molecular and pharmacological attributes of anti-CD20 therapies for multiple sclerosis. *CNS Drugs* 2021; 35: 985–997.

- Bryniarski K: Regulatory B cells: a stabilizer of the immune system. *Cent Eur J Immunol* 2018; 43: 200–205.
- Chisari CG, Sgarlata E, Arena S et al.: Rituximab for the treatment of multiple sclerosis: a review. *J Neurol* 2022; 269: 159–183.
- Cotchet KR, Dittel BN, Obeidat AZ: Comparison of the efficacy and safety of anti-CD20 B cells depleting drugs in multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord* 2021; 49: 102787.
- Delgado SR, Faissner S, Linker RA et al.: Key characteristics of anti-CD20 monoclonal antibodies and clinical implications for multiple sclerosis treatment. *J Neurol* 2024; 271: 1515–1535.
- Derfuss T, Weber M, Hughes R et al.:ECTRIMS 2019 – oral presentations: serum immunoglobulin levels and risk of serious infections in the pivotal phase III trials of ocrelizumab in multiple sclerosis and their open-label extensions. *Mult Scler J* 2019; 25: 3–130.
- Dunn N, Jut A, Ryner M et al.: Rituximab in multiple sclerosis: frequency and clinical relevance of anti-drug antibodies. *Mult Scler* 2018; 24: 1224–1233.
- Dzierzak E, Bigas A: Hematopoietic stem cells: development and regulation. *Cell Stem Cell* 2018; 22: 639–651.
- Ellrichmann G, Bolz J, Peschke M et al.: Peripheral CD19⁺ B-cell counts and infusion intervals as a surrogate for long-term B-cell depleting therapy in multiple sclerosis and neuromyelitis optica/neuromyelitis optica spectrum disorders. *J Neurol* 2019; 266: 57–67.
- Fernández-Velasco JI, Kuhle J, Monreal E et al.: Effect of ocrelizumab in blood leukocytes of patients with primary progressive MS. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2021; 8: e940.
- Foley JF, Alvarez E, Fox EJ et al.: Ublituximab, a novel, glycoengineered anti-CD20 monoclonal antibody (mAb), demonstrates enhanced antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) relative to other anti-CD20 mAbs. Poster presented at the 75th American Academy of Neurology (AAN) Annual Meeting. Boston, MA (2023). Poster P7.011.
- Galli E, Hartmann FJ, Schreiner B et al.: GM-CSF and CXCR4 define a T helper cell signature in multiple sclerosis. *Nat Med* 2019; 25: 1290–1300.
- Gasperi C, Stüve O, Hemmer B: B cell-directed therapies in multiple sclerosis. *Neurodegener Dis Manag* 2016; 6: 37–47.
- Glennie MJ, French RR, Cragg MS et al.: Mechanisms of killing by anti-CD20 monoclonal antibodies. *Mol Immunol* 2007; 44: 3823–3837.
- Hahn A, Fukuda T, Hahn D et al.: Pharmacokinetics and pharmacogenomics of β -lactam-induced neutropenia. *Pharmacogenomics* 2016; 17: 547–559.
- Hammer H, Kamber N, Pistor M et al.: Ocrelizumab-related neutropenia: effects of age, sex and bodyweight using the FDA Adverse Event Reporting System (FAERS). *Mult Scler Relat Disord* 2022; 65: 104015.
- Hauser SL, Bar-Or A, Cohen JA et al.; ASCLEPIOS I and ASCLEPIOS II Trial Groups: Ofatumumab versus teriflunomide in multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2020; 383: 546–557.
- Hauser SL, Bar-Or A, Comi G et al.; OPERA and OPERA II Clinical Investigators: Ocrelizumab versus interferon beta-1a in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2017; 376: 221–234.
- Hauser SL, Kappos L, Bar-Or A et al.: The development of ofatumumab, a fully human anti-CD20 monoclonal antibody for practical use in relapsing multiple sclerosis treatment. *Neurol Ther* 2023; 12: 1491–1515.
- Hawker K, O'Connor P, Freedman MS et al.; OLYMPUS trial group: Rituximab in patients with primary progressive multiple sclerosis: results of a randomized double-blind placebo-controlled multicenter trial. *Ann Neurol* 2009; 66: 460–471.
- Honeychurch J, Alduaij W, Azizyan M et al.: Antibody-induced nonapoptotic cell death in human lymphoma and leukemia cells is mediated through a novel reactive oxygen species-dependent pathway. *Blood* 2012; 119: 3523–3533.
- Kira JI, Nakahara J, Sazonov DV et al.: Effect of ofatumumab versus placebo in relapsing multiple sclerosis patients from Japan and Russia: phase 2 APOLITOS study. *Mult Scler* 2022; 28: 1229–1238.
- Klein C, Lammens A, Schäfer W et al.: Epitope interactions of monoclonal antibodies targeting CD20 and their relationship to functional properties. *MAbs* 2013; 5: 22–33.
- Krause DS, Fackler MJ, Civin CI et al.: CD34: structure, biology, and clinical utility. *Blood* 1996; 87: 1.
- van Langelaar J, Rijvers L, Smolders J et al.: B and T cells driving multiple sclerosis: identify, mechanisms and potential triggers. *Front Immunol* 2020; 11: 760.
- LeBien TW, Tedder TF: B lymphocytes: how they develop and function. *Blood* 2008; 112: 1570.
- Li R, Rezk A, Miyazaki Y et al.; Canadian B cells in MS Team: Proinflammatory GM-CSF-producing B cells in multiple sclerosis and B cell depletion therapy. *Sci Transl Med* 2015; 7: 310ra166.
- Montalban X, Hauser SL, Kappos L et al.; ORATORIO Clinical Investigators: Ocrelizumab versus placebo in primary progressive multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2017; 376: 209–220.
- Moore DC: Drug-induced neutropenia: a focus on rituximab-induced late-onset neutropenia. *P T* 2016; 41: 765–768.
- van Oers M, Smolej L, Petrini M et al.: Ofatumumab maintenance prolongs progression-free survival in relapsed chronic lymphocytic leukemia: final analysis of the PROLONG study. *Blood Cancer J* 2019; 9: 98.
- Pacheco-Fernandez T, Touil I, Perrot C et al.: Anti-CD20 antibodies ofatumumab and ocrelizumab have distinct effects on human B-cell survival (S52.003). *Neurology* 2018; 90 (15_supplement).
- Pavlasova G, Mraz M: The regulation and function of CD20: an “enigma” of B-cell biology and targeted therapy. *Haematologica* 2020; 105: 1494–1506.
- Rossi L, Dinoto A, Bratina A et al.: Neutropenia complicating anti-CD20 treatment in patients with multiple sclerosis: a retrospective case series and a systematic review of reported cases. *Mult Scler Relat Disord* 2022; 68: 104090.
- Schuckmann A, Steffen F, Zipp F et al.: Impact of extended interval dosing of ocrelizumab on immunoglobulin levels in multiple sclerosis. *Med* 2023; 4: 361–372.e3.
- Sorensen PS, Lisby S, Grove R et al.: Safety and efficacy of ofatumumab in relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase 2 study. *Neurology* 2014; 82: 573–581.
- Steinman L, Fox E, Hartung HP et al.; ULTIMATE I and ULTIMATE II Investigators: Ublituximab versus teriflunomide in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2022; 387: 704–714.
- Teeling JL, French RR, Cragg MS et al.: Characterization of new human CD20 monoclonal antibodies with potent cytolytic activity against non-Hodgkin lymphomas. *Blood* 2004; 104: 1793–1800.
- Torres JB, Roodselaar J, Sealey M et al.: Distribution and efficacy of ofatumumab and ocrelizumab in humanized CD20 mice following subcutaneous or intravenous administration. *Front Immunol* 2022; 13: 814064.
- Touil I, Perrot C, Elain G et al.: Ofatumumab and ocrelizumab differentially induce human primary B cell lysis by complement dependent cytotoxicity. *Mult Scler J* 2019; 25: 157–165.
- Vakrakou AG, Tzanetakos D, Valsami S et al.: A case of alemtuzumab-induced neutropenia in multiple sclerosis in association with the expansion of large granular lymphocytes. *BMC Neurol* 2018; 18: 178.
- Voog E, Morschhauser F, Solal-Céligny P: Neutropenia in patients treated with rituximab. *N Engl J Med* 2003; 348: 2691–2694.
- Weng WK, Negrin RS, Lavori P et al.: Immunoglobulin G Fc receptor Fc γ RIIIa 158 V/F polymorphism correlates with rituximab-induced neutropenia after autologous transplantation in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2010; 28: 279–284.
- Żur-Wyrozumka K: Immunologia dla neurologów. Medical Education, 2024.