



Terapeutyczne i rynkowe perspektywy rekombinowanych leków

Maria Jarecka, Piotr Borowicz

Instytut Biotechnologii i Antybiotyków, Warszawa

Therapeutic and market expectancy of recombinant medicines

Summary

Therapeutic applications and global market of commercialized biopharmaceuticals-recombinant medicines have been presented. The first and second generation of genetically engineered products such as: hormones, cytokines, blood factors, monoclonal antibodies and others approved to date or undergoing clinical investigations in the US and EU have been described. They are used to treat or prevent many diseases, including: diabetes, growth deficiency, anemia, cardio-vascular disorders and, especially, immune-mediated inflammatory disorders and various cancers. The authors have also presented current global biopharmaceutical market, leading biopharmaceuticals, the fastest growing recombinant protein categories and strategic market analysis and forecasts until 2010.

Key words:

biopharmaceutics, recombinant medicines, therapeutic applications, drug market.

1. Wstęp

Do niedawna to wyłącznie firmy farmaceutyczne wprowadzały na rynki medyczne leki biotechnologiczne, czerpiąc z dokonań badawczych na ogół mniejszych firm biotechnologicznych, badających możliwości technologii i zastosowań terapeutycznych nowych białek opartych na rekombinacji genów. Wiele z tych firm, nazwanych „platformami”, gdyż tworzyły pomost pomiędzy badaniami a rejestracją leków w procesie komercjalizacji odkryć naukowych, w ostatnim dziesięcioleciu rozszerzyło strategię swojego rozwoju i również stało się firmami produktowymi.

Adres do korespondencji

Maria Jarecka,
Instytut Biotechnologii
i Antybiotyków,
ul. Starościńska 5,
02-516 Warszawa.

biotechnologia

4 (71) 7–27 2005

Powodem tych przekształceń stała się silnie wzrastająca pozycja rynkowa nowoczesnych leków biotechnologicznych i coraz szersze możliwości ich zastosowań terapeutycznych.

2. Biofarmaceutyki – cele terapeutyczne

W minionym wieku odnotowujemy dwie niezwykle ważne daty dotyczące biotechnologii leków.

Pierwsza z nich – to połowa lat czterdziestych XX w., kiedy uruchomiono wielkoprzemysłową produkcję pierwszego antybiotyku naturalnego – penicyliny G, a w ślad za nią opracowano nowe technologie biosyntezy kolejnych antybiotyków i innych bioproduktów. Drugą datą, stanowiącą jednocześnie początek nowoczesnej biotechnologii, są wczesne lata osiemdziesiąte, a dokładnie rok 1982, w którym to do leczenia wprowadzono pierwszy lek uzyskany drogą inżynierii genetycznej – rekombinowaną ludzką insulinę (Humulin[®], Eli Lilly – na podstawie opracowania Genentech). Następnie, w 1985 r. zarejestrowano pierwszy rekombinowany hormon wzrostu (Protropin, Genentech), a w roku 1986 dwie pierwsze rekombinowane cytokiny – interferon alfa-2a (Roferon A[®], Hoffmann-La Roche) i interferon alfa-2b (Intron A[®], Schering-Plough) oraz pierwszą rekombinowaną szczepionkę (Recombivax[®], Merck) przeciwko wirusowemu zapaleniu wątroby typu B.

Od tego czasu, dzięki szybkiemu rozwojowi biologii molekularnej i technologii rekombinowanego DNA oraz technologii przeciwciał monoklonalnych rozpoczęto w skali przemysłowej produkcję leków o strukturze polipeptydowo-białkowej (1-6).

Określane są one najczęściej – w tym także w naszej publikacji – mianem „biofarmaceutyków”, jakkolwiek również zaliczane są do znacznie szerszej klasy leków nazywanych „biotechnologicznymi” (*biotechnology medical products, biotechnology(based)medicines/drugs/products*) czy „biologicznych produktów leczniczych” (*therapeutic biologics*). Spotykamy także terminy – terapeutyczne białka lub terapeutyczne przeciwciała monoklonalne, które obejmują opisywane przez nas biofarmaceutyki, czyli leki o strukturze polipeptydowo-białkowej otrzymywane z zastosowaniem metod rekombinowanego DNA lub technologii przeciwciał monoklonalnych. Brak jednolitej nomenklatury jest przyczyną rozbieżnych danych dotyczących różnie rozumianych grup leków.

Trwają prace nad biofarmaceutykami wywodzącymi się ze struktury kwasów nukleinowych (terapia antysensowa, terapia genowa). Po wycofaniu z rynku europejskiego w roku 2002 Vitravene (fomivirsen) – oligonukleotydu o antysensowym mechanizmie działania, przeznaczonym do leczenia zapalenia siatkówki wywołanej wirusem cytomegalii u chorych z AIDS, nie wprowadzono, jak dotąd, do leczenia biofarmaceutyku o charakterze kwasu nukleinowego.

Większość biofarmaceutyków wytwarzana jest z użyciem rekombinowanych bakterii (głównie *Escherichia coli*) i drożdży (głównie *Saccharomyces cerevisiae*), jak rów-

niez rekombinowanych linii komórkowych organizmów wyższych oraz – w przypadku przeciwciał monoklonalnych – w hybrydowych kulturach międzygatunkowych.

W skład biofarmaceutyków wchodzi niezwykle cenne grupy leków, takie jak: rekombinowane hormony, interferony, interleukiny, hematopoetyczne czynniki wzrostu, czynnik martwicy nowotworów, czynniki krzepnięcia krwi, preparaty trombolityczne, enzymy terapeutyczne, przeciwciała monoklonalne i szczepionki. Z klinicznego punktu widzenia znalazły one zastosowanie w leczeniu lub zapobieganiu szeregu schorzeń, między innymi: cukrzyca, niedoboru wzrostu u dzieci i osób dorosłych, zawału serca, zastoinowej niewydolności serca, udaru mózgu, stwardnienia rozsianego, neutropenii, trombocytopenii, anemii, zapalenia wątroby, reumatoidalnego zapalenia stawów, choroby Crohna, astmy oraz białaczki i całego szeregu chorób nowotworowych (7,8).

Wykorzystanie technologii rekombinowanego DNA do produkcji ludzkich białek rozwiązało problemy ograniczonej ilości odpowiednich surowców z naturalnych źródeł, jak również zredukowało możliwość wystąpienia takich działań niepożądanych jak choroba Creutzfelda-Jacoba, zapalenie wątroby typu B lub HIV, wynikających z zanieczyszczeń białek izolowanych z tych źródeł. Pierwszymi biofarmaceutykami wprowadzonymi na światowe rynki farmaceutyczne były rekombinowane białka o strukturze aminokwasowej, identycznej z natywnymi białkami ludzkimi, wytworzone w celu zastąpienia lub uzupełnienia niedoboru naturalnych białek. Stanowią one obecnie pierwszą generację tych leków (tab. 1).

Tabela 1

Wybrane biofarmaceutyki pierwszej generacji

Preparat	Firma, rok wprowadzenia	Wskazanie terapeutyczne
1	2	3
HORMONY		
Humulin/Insuman (rh-Insulina; <i>E. coli</i>)	Eli Lilly, 1982 (USA) Hoechst AG, 1997 (EU*)	cukrzyca
Novolin/Actrapid/Velosulin/ Monotard/Insulatard/Protaphane/ Mixtard/Actraphane/ Ultratard, (rh-Insulina; <i>S. cerevisiae</i> ; formy krótko-, średnio- i długodziałające)	Novo Nordisk, 1991 (USA), 2002 (EU)	
Protropin (rh-GH, <i>E. coli</i>)	Genentech, 1985 (USA)	niskorosłość u dzieci z niedoborem hormonu wzrostu
Humatrope (rh-GH, <i>E. coli</i>)	Eli Lilly, 1987 (USA)	niskorosłość u dzieci z niedoborem hormonu wzrostu; zespół Turnera; niedobór hormonu wzrostu u osób dorosłych

1	2	3
Nutropin (rh-GH, <i>E. coli</i>)	Genentech, 1994 (USA)	niskorosłość u dzieci związana z niedoborem hormonu wzrostu; zespół Turnera; niskorosłość w przewlekłej niewydolności nerek; niedobór hormonu wzrostu u osób dorosłych
Norditropin (rh-GH, <i>E. coli</i>)	Novo Nordisk 1995 (USA)	
Saizen (rh-GH, zwierzęce linie komórkowe)	Serono Laboratories 1996 (USA)	
Nutropin AQ (rh-GH, <i>E. coli</i>)	Schwartz Pharma AG 2001 (EU)	
Bio Tropin (rh-GH, <i>E. coli</i>)	Biotechnology General, 1995 (USA)	niskorosłość u dzieci z niedoborem hormonu wzrostu; zespół Turnera
Genotropin (rh-GH, <i>E. coli</i>)	Pharmacia and Upjohn 1995 (USA)	niskorosłość u dzieci związana z niedoborem hormonu wzrostu; zespół Turnera; niskorosłość w przewlekłej niewydolności nerek; zespół Pradera-Willego; niedobór hormonu wzrostu u osób dorosłych
Serostim (rh-GH; zwierzęce linie komórkowe)	Serono Laboratories 1996 (USA)	wyniszczenie towarzyszące AIDS
Glucagen (rh-glukagon, <i>S. cerevisiae</i>)	Novo Nordisk 1998 (USA)	hipoglikemia
Thyrogen (tytropina- α , rh-TSH, komórki CHO)	Genzyme, 1998 (USA), 2000 (EU)	wykrywanie/leczenie raka tarczycy
Gonal F (folitropina α rh-FSH, komórki CHO)	Serono 1995 (EU), 1997 (USA)	niepłodność
Puregon/Follistim (folitropina β rh-FSH, komórki CHO)	N.V. Organon, 1996 (EU) Organon, 1997 (USA)	
Luveris (lutropina rh-LH, <i>S. cerevisiae</i>)	Ares-Serono 2000 (EU)	
CYTOKINY		
Roferon A (rh-IFN- α -2a, <i>E. coli</i>)	Hoffman-La Roche 1986 (USA)	różnego rodzaju nowotwory złośliwe (białaczka włochatokomórkowa; mięsak Kaposiego w przebiegu AIDS; T-komórkowy chłoniak skórny; przewlekła białaczka szpikowa; chłoniaki niezłośliwe o małym stopniu złośliwości; zaawansowane stadium raka nerki; czerniak złośliwy); przewlekłe zapalenie wątroby typu B i C)
Intron A/Alfatronol/ Viraferon/ Virtron (rIFN- α -2b, <i>E. coli</i>)	Schering Plough 1986 (USA), 2000 (EU)	
Rebif (rIFN- β -1a, komórki CHO)	Ares-Serono 1998 (EU), 2002 (USA)	nawrotowo-remisyjna postać stwardnienia rozsianego
Avonex (rh-IFN-b-1a, komórki CHO)	Biogen 1996 (USA), 1997 (EU)	
Betaseron/Betaferon (rh-IFN-b -1b, <i>E. coli</i>)	Chiron, 1993 (USA) Schering, 1995 (EU)	
Actimmune (rh-IFN- γ -1b, <i>E. coli</i>)	Genentech 1990 (USA)	przewlekła ziarniniakowatość
Beromun (rh-TNF- α , <i>E. coli</i>)	Boehringer-Ingelheim 1999 (EU)	pomocniczo w chirurgii mięsaka tkanki miękkiej

1	2	3
HEMATOPOETYCZNE CZYNNIKI WZROSTU		
Epogen/Eporex/Procrit (rh-EPO α , komórki CHO)	Amgen, Cilag, Ortho Biotech 1989, 1990 (USA)	niedokrwistość związana z przewlekłą niewydolnością nerek, chorobami nowotworowymi i u pacjentów z HIV
Neorecormon (rh-EPO β , komórki CHO)	Boehringer-Mannheim, Hoffmann-La Roche, 1997 (EU)	
Neupogen/Lenograstim (filgrastim, rG-CSF, <i>E. coli</i>)	Amgen, 1991 (USA) Hoffmann-La Roche, 1994 (EU)	neutropenia u chorych onkologicznych leczonych cytostatykami, przyspieszenie ochrony układu krwiotwórczego po przeszczepieniu szpiku, przewlekła wrodzona neutropenia
CZYNNIKI KRZEPNIĘCIA KRWI		
Bioclote/ Recombinate (rh-czynnik VIII, komórki CHO)	Centeon, Baxter Healthcare/Genetics Institute, 1992, 1993 (USA)	hemofilia typu A
Kogenate/ Helixate (rh-czynnik VIII komórkach BHK)	Bayer 1993 (USA), 2000 (EU)	
NovoSeven (rh-czynnik VIIa, komórki BHK)	Novo Nordisk 1995 (EU), 1999 (USA)	hemofilia typu A lub B oporna na czynnik VIII i czynnik IX
Benefix (rh-czynnik IX, komórki CHO)	Genetics Institute 1997 (USA, EU)	hemofilia B
TKANKOWE AKTYWATORY PLAZMINOGENU		
Activase/Actilyse (alteplase, rh-tPA, komórki CHO)	Genentech 1987 (USA), 1994 (EU)	ostry zawał mięśnia sercowego, ostra zatorowość płucna, ostry niedokrwieny udar mózgu
ENZYMY		
Fabrazyme (agalsidase beta, rh α -galaktozydaza b, komórki CHO)	Genzyme 2001 (EU), 2003 (USA)	choroba Fabry'ego (niedobór α -galaktozydazy)
Replagal (agalsidase alfa, rh α -galaktozydaza a, ludzka linia komórkowa)	TKT Europe 2001 (EU)	
Pułmozyme (dornase alfa, rhD Nase, komórki CHO)	Genentech 1993 (USA)	mukowiscydoza

*EU – wg centralnej procedury Unii Europejskiej

Podobnie jak w przypadku leków otrzymywanych drogą syntezy chemicznej, tak i w badaniach nad lekami wytwarzanymi metodami inżynierii genetycznej, dąży się do uzyskania preparatów nowych generacji charakteryzujących się m.in. lepszą farmakokinetyką i biodystrybucją, bardziej ukierunkowaną i wyższą skutecznością terapeutyczną lub obciążonych mniejszą ilością działań niepożądanych w porównaniu z lekami dostępnymi już na rynku farmaceutycznym. W ten sposób pod koniec lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku i na początku obecnego stulecia otrzymano

pierwsze preparaty zaliczane obecnie do drugiej generacji biofarmaceutyków, w których naturalne białko zostało celowo zmodyfikowane (tab. 2). Modyfikacje dotyczyły zmiany sekwencji aminokwasów, zmiany składników cukrowych (w przypadku biofarmaceutyków glikozylowanych), kowalencyjnego przyłączenia innych części cząsteczek chemicznych do białek leczniczych, np. polietylenoglikolu lub fuzji dwu- lub więcej polipeptydów (9-12).

Tabela 2

Wybrane biofarmaceutyki drugiej generacji

Preparat	Wskazanie terapeutyczne	Firma, rok wprowadzenia
1	2	3
HORMONY		
Humalog/Liprolog (insulin lispro, szybko działający analog insuliny)	cukrzyca	Eli Lilly 1996 (USA), 2001 (EU)*
NovoRapid/Novolog (insulin aspart, szybko działający analog insuliny)	cukrzyca	Novo Nordisk 1999 (EU), 2000 (USA), 2001 (USA)
Lantus/Optisulin (insulin glargine, długo-działający analog insuliny)	cukrzyca	Aventis 2000 (USA, EU)
Levemir (insulin datemir, długodziałający analog insuliny)	cukrzyca	Novo Nordisk 2004 (EU)
CYTOKINY		
Pegasys (pegylowana forma interferonu alfa-2a)	przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu C	Hoffmann-La Roche 2002 (EU, USA)
Peg-Intron (pegylowana forma interferonu alfa-2b)	przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu C	Schering Plough 2000 (EU), 2001 (USA)
HEMATOPOETYCZNE CZYNNIKI WZROSTU		
Aranesp/Nespo (darbopoetyna alfa, długo-działający analog EPO)	niedokrwistość związana z przewlekłą chorobą nerek i chorobami nowotworowymi	Amgen, 2001 (EU, USA) Dompe Biotec 2001(EU)
Neulasta/Neupopeg (pegylowana forma filgrastimu)	neutropenia u chorych onkologicznych	Amgen, 2002 (USA, EU)
CZYNNIKI KRZEPNIĘCIA KRWI		
ReFacto (analog czynnika VIII) o wyższej aktywności i trwałości cząsteczki	niedokrwistość typu A	Genetics Institute 1999 (EU), 2000 (USA)
TKANKOWE AKTYWATORY PLAZMINOGENU		
Retavase/Repilysin/Ecokinase (analog tPA)	ostry zawał mięśnia sercowego	Boehringer-Mannheim/Centocor/Galenus Mannheim 1996 (USA, EU)
TNKase/Tenecteplase/Metalyse (tenecteplase, analog tPA)	ostry zawał mięśnia sercowego	Genentech 2000 (USA) Boehringer-Ingelheim 2001 (EU)

1	2	3
BIĄŁKA FUZYJNE		
Amevive (alefacept, dimeryczne białko fuzyjne)	umiarkowana-groźna przewłękła łuszczyca	Biogen 2003 (USA)
Enbrel (etanercept, dimeryczne białko fuzyjne powstałe z połączenia domeny receptora TNF z rejonem Fc IgG1)	aktywne reumatoidalne zapalenie stawów u osób dorosłych; aktywne, wielostawowe młodzieńcze zapalenie stawów; aktywne zapalenie stawów u chorych z artropatią łuszczykową, choroba Crohna	Amgen i Wyeth 1998 (USA) Wyeth Europa Ltd 2000 (EU)
Ontak (białko fuzyjne złożone z rIL-2 i zmodyfikowanej toksyny błoniczej)	skórne chłoniaki z limfocytów T	Ligand Pharmaceuticals 1999 (USA)

*EU – wg centralnej procedury Unii Europejskiej

Jednymi z pierwszych biofarmaceutyków, które zostały poddane modyfikowaniu były insuliny i preparaty trombolityczne. Zmiany sekwencji niektórych aminokwasów (inercja, delecja lub substytucja) w łańcuchach insuliny spowodowały otrzymanie szybko- i długodziałających analogów insuliny, a w wyniku usunięcia określonych domen strukturalnych, bądź zastąpienia aminokwasów w trzech pozycjach w tkankowym aktywatorze plazminogenu uzyskano drugą generację trombolityków o przedłużonym okresie półtrwania.

W przypadku biofarmaceutyków glikozylowanych (np. erytropoetyna, glukocerebrozydaza), zmiana ilości i jakości rozgałęzionych struktur cukrowych powoduje wydłużenie okresu półtrwania w zmodyfikowanej cząsteczce.

Inna metoda modyfikacji prowadząca do otrzymania biofarmaceutyków o przedłużonym okresie półtrwania polega na kowalencyjnym przyłączeniu polietylenoglikolu do cząsteczki białka zwiększając jego ciężar cząsteczkowy. Ponadto modyfikacja białka poprzez pegylowanie może powodować zmniejszenie antygenowości, zmniejszenie procesu degradacji przez proteolizę oraz zwiększenie stabilności termicznej i mechanicznej cząsteczki. W ciągu ostatnich lat wprowadzono do lecznictwa formy PEG-interferonu alfa-2a i -2b oraz zmodyfikowany poprzez pegylację hematopoetyczny czynnik wzrostu – filgrastim.

Do drugiej generacji biofarmaceutyków należą także białka fuzyjne (hybrydowe), stanowiące jedne z najbardziej innowacyjnych produktów inżynierii genetycznej i składające się z dwóch (lub potencjalnie więcej) naturalnych białek/fragmentów białek połączonych ze sobą bezpośrednio lub za pomocą krótkiego linkera. Łączenie białek terapeutycznych z fragmentami/lub całymi przeciwciałami ma na celu uzyskanie białek fuzyjnych o ulepszonych właściwościach (wydłużenie biologicznego okresu półtrwania, wykorzystanie specyficznych właściwości przeciwciał, wyższa aktywność formy dimerycznej w porównaniu z monomeryczną). Do chwili obecnej zarejestrowano 3 preparaty będące fuzyjnymi białkami terapeutycznymi (Amevive, Enbrel, Ontak).

Do grupy biofarmaceutyków zaliczane są także przeciwciała monoklonalne. Przeciwciała monoklonalne I generacji to preparaty pochodzenia mysiego, otrzymane klasyczną technologią hybrydoma opracowaną przez Milsteina i Köhlera w latach siedemdziesiątych (13). Ze względu na wywoływanie reakcji alergicznych wykorzystywano je głównie w celach analitycznych i diagnostycznych. Ponadto charakteryzowały się one relatywnie krótkim okresem biologicznego półtrwania. Tylko niektóre z nich znalazły zastosowanie terapeutyczne. Pierwszym mysim przeciwciałem monoklonalnym wprowadzonym do leczenia w 1986 r. był preparat Orthoclone OKT3 firmy Ortho Biotech do stosowania w transplantologii przeciwko ostremu odrzuceniu przeszczepu nerki. W 1995 r. firma GlaxoSmithKline wprowadziła na rynek Panorex (edrecolomab) – mysie przeciwciało monoklonalne do leczenia raka odbytnicy i jelita grubego. W 2002 r. zarejestrowano Zevalin (ibritumomab znakowany Itrēm 90) firmy IDEC do stosowania w terapii chłoniaków niezziarniczych i chłoniaka grudkowego, a w 2003 r. preparat Bexxar (tositumomab i tositumomab znakowany jodem 131) do leczenia chłoniaka niezziarniczego.

Dzięki wprowadzeniu metod inżynierii genetycznej do technologii przeciwciał monoklonalnych otrzymano formy coraz bardziej zhumanizowane (chimeryczne – ludzko-mysie, humanizowane i w pełni ludzkie) do stosowania w medycynie. Otrzymano w ten sposób preparaty zaliczane do II generacji przeciwciał monoklonalnych (tab. 3). Przeciwciała monoklonalne należące do II generacji stanowią bardzo ważną grupę leków stosowanych w onkologii i w szeregu chorób o podłożu immunologicznym. Charakterystyczną cechą tego typu przeciwciał monoklonalnych jest znacząco zredukowana lub wyeliminowana immunogenność (14-17).

Tabela 3

Przeciwciała monoklonalne II generacji otrzymane przy użyciu metod inżynierii genetycznej

Nazwa handlowa (nazwa międzynarodowa)	Firma	Typ mAb	Wskazanie terapeutyczne	Rok wprowadzenia
1	2	3	4	5
ReoPro® (abciximab)	Centocor/Eli Lilly	chimeryczne	angioplastyka – zapobieganie powikłaniom powodującym ostre niedokrwienie serca, niestabilna dławica piersiowa	1994 (USA)
Rituxan®/Mabthera® (rituximab)	Biogen IDEC/Roche	chimeryczne	chłoniak niezziarniczy, chłoniak z limfocytów B, przewlekła białaczka limfocytarna	1997 (USA) 1998 (EU)*
Zenapax® (daclizumab)	Protein Design Lab./Roche	humanizowane	profilaktyka ostrego odrzucania przeszczepu nerki	1997 (USA) 1999 (EU)
Simulect® (basiliximab)	Novartis	chimeryczne	profilaktyka ostrego odrzucania przeszczepu nerki	1998 (USA) 1998 (EU)
Synagis® (palivizumab)	Medimmune/ Abbott	humanizowane	zapobieganie u dzieci zakażeniom wywołanym przez syncytialny wirus oddechowy (RSV)	1998 (USA) 1999 (EU)

1	2	3	4	5
Remicade® (infliximab)	Centocor/ Schering-Plough	chimeryczne	czynne reumatoidalne zapalenie stawów, choroba Crohna	1998 (USA) 1999 (EU)
Herceptin® (trastuzumab)	Genentech/Roche	humanizowane	rak sutka z przerzutami	1998 (USA) 2000 (EU)
Mylotarg® (gemtuzumab ozogamicin)	Wyeth	humanizowane	ostra białaczka szpikowa	2000 (USA)
Campath®/Mabcampath® (alemtuzumab)	Millenium/ILEX, Schering	humanizowane	przewlekła białaczka limfatyczna i szpikowa, stwardnienie rozsiane	2001 (USA) 2001 (EU)
Humira®/Trudexa® (adalimumab)	Abbott	ludzkie	czynne reumatoidalne zapalenie stawów	2002 (USA) 2003 (EU)
Xolair® (omalizumab)	Genentech	humanizowane	astma	2003 (USA)
Raptiva® (efalizumab)	Genentech	humanizowane	łuszczyca	2003 (USA)
Erbix™ (cetuximab)	Imclone Systems	chimeryczne	rak odbytnicy i jelita grubego	2004 (USA)
Avastin™ (bevacizumab)	Genentech	humanizowane	rak odbytnicy i jelita grubego	2004 (USA)

* EU – wg centralnej procedury Unii Europejskiej

Dużym wyzwaniem i przyszłością dla terapii biologicznej z udziałem biofarmaceutyków jest grupa chorób o podłożu zapalnym, w powstawaniu których uczestniczy układ immunologiczny (tzw. *Immune-Mediated Inflammatory Disorders* – IMID). Charakteryzują się one zaburzeniami immunologicznymi, przewlekłym procesem zapalnym i uszkodzeniem tkanek (18).

Ponieważ choroby zapalne dotyczą wielu układów, takich jak pokarmowy, krążenia, kostno-stawowy, nerwowy, oddechowy czy dermatologiczny, różnią się one obrazem klinicznym, natomiast mają wspólne szlaki molekularne powstałe na skutek nieprawidłowego lub nadmiernego wytwarzania cytokin (19). Do grupy cytokin prozapalnych należą m.in. TNF-alfa, IL-1 i IL-6 uczestniczące w wielu typach schorzeń o podłożu zapalnym (tab. 4). Stąd celowym stało się wprowadzenie do terapii leków ingerujących w poziom cytokin, w tym preparatów uzyskanych drogą rekombinacji DNA i technik przeciwciał monoklonalnych. Biofarmaceutyki blokujące czynnik martwicy nowotworów TNF-alfa i interleukinę-1, wprowadzone do leczenia w końcu lat dziewięćdziesiątych, stanowią przełom w hamowaniu postępu reumatoidalnego zapalenia stawów (20-22). W latach 2000-2003 dla preparatów etanercept, infliximab i adalimumab rozszerzono wskazania terapeutyczne o nieswoistą chorobę zapalną jelit – choroba Leśniewskiego-Crohna, w której dochodzi m.in. do zaburzenia równowagi pomiędzy aktywnością cytokin prozapalnych i przeciwzapalnych oraz o leczenie łuszczycy (tab. 5) (23-26).

Tabela 4

Udział cytokin w różnego rodzaju chorobach o podłożu zapalnym z udziałem układu immunologicznego (IMID)

Jednostka chorobowa	Nadprodukcja cytokin
choroba Leśniowskiego-Crohna	TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IFN- γ
wrzodziejące zapalenie jelita grubego (<i>colitis ulcerosa</i>)	IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-8, TNF- α
cukrzyca typu 1	TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-12, IFN- γ
reumatoidalne zapalenie stawów	TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-2, IL-12, IFN- γ , IL-15, IL-17, IL-18
artropatia łuszczykowa	TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IFN- γ
zesztywniające zapalenie stawów kręgosłupa	TNF- α , IL-10
przewlekła niewydolność serca	TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8
stwardnienie rozsiane	IL-6, IL-12, IL-23, TNF- α
gorączka u chorych na oddziałach intensywnej terapii	TNF- α , IL-1 β , IL-6
astma	IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, IL-16
sarkoidoza	TNF- α , IL-1 β , IL-6, TGF- β
łuszczyca	TNF- α
układowy toczeń rumieniowaty	IFN- γ

Tabela 5

Biofarmaceutyki stosowane w reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS) i innych chorobach o podłożu zapalnym z udziałem układu immunologicznego

Nazwa handlowa (międzynarodowa) Producent	Budowa cząsteczkowa	Wskazania
1	2	3
Remicade® (infliximab) Centocor, Inc	chimeryczne przeciwciało monoklonalne przeciw TNF- α	aktywne RZS; hamowanie postępu zmian destrukcyjnych w stawach i kościach; skojarzone leczenie pierwszego rzutu wczesnego RZS u pacjentów z ciężką, aktywną i progresywną chorobą; obecność przetok u pacjentów z chorobą Crohna
Enbrel® (etanercept) Immunex Corporation	rozpuszczalny receptor dla TNF- α sprzężony z fragmentem stałym immunoglobuliny IgG	aktywne RZS u osób dorosłych; aktywne, wielostawowe młodzieńcze zapalenie stawów (14-17 lat); leczenie aktywnego RZS u chorych z artropatią łuszczykową; choroba Crohna; łuszczyca; łuszczykowe zapalenie stawów; zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa; WZW C (w skojarzeniu ze standardowym leczeniem)

1	2	3
Humira™ (adalimumab) Abbott	ludzkie przeciwciało monoklonalne przeciw TNF- α	aktywne RZS; hamowanie postępu zmian destrukcyjnych w stawach i kościach; młodzieńcze zapalenie stawów; łuszczyca; łuszczycowe zapalenie stawów; choroba Crohna
Kineret™ (anakinra) Amgen, Inc	rekombinowany antagonist receptoru IL-1	aktywne RZS \geq 18 lat

Badania nad nowymi biofarmaceutykami o potencjalnym znaczeniu terapeutycznym prowadzone są na szeroką skalę. W różnych fazach badań klinicznych znajdują się preparaty otrzymane metodami inżynierii genetycznej (tab. 6).

Tabela 6

Wybrane biofarmaceutyki będące w różnych fazach badań klinicznych w leczeniu chorób o podłożu immunologicznym oraz w terapii nowotworów

Lek/Producent	Budowa cząsteczkowa	Faza badań	Wskazania
Atlizumab/Actemra Chugai/Roche	humanizowane przeciwciało monoklonalne przeciw IL-6	III	RZS*; choroba Crohna; szpiczak mnogi
Pegsunercept Amgen/Wyeth	pegylowana forma rozpuszczalnego receptora dla TNF- α	II/III	RZS
CDP-870 Celltech Group/Pfizer	pegylowany fragment humanizowanego przeciwciała przeciwko TNF- α	III	RZS; choroba Crohna
CDP-484 Celltech Group	pegylowany fragment przeciwciała przeciwko IL-1 β	I/II	RZS
Il-1 trap Regeneron/Novartis	białko wiążące IL-1	II	RZS
Huvap (vapaliximab) BioTie Therapies	humanizowane przeciwciało monoklonalne blokujące VAP-1	I/II	RZS; łuszczyca; wrzodziejące zapalenie okrężnicy
ABT-874 Abbott	ludzkie przeciwciało monoklonalne przeciwko IL-12	II	choroba Crohna
AMG 714 (HuMax-IL15) Genmab	ludzkie przeciwciało monoklonalne przeciw IL-15	II	RZS
LymphoCide (epratuzumab) Immunomedics	humanizowane przeciwciało monoklonalne przeciw CD22	III	chłoniak grudkowy; chłoniak niezłośliwy
HuMax-CD4 (zanolimumab) Genmab	ludzkie przeciwciało monoklonalne przeciw CD4	II	chłoniak skóry z limfocytów T; chłoniak z limfocytów T
Lucentis (ranibizumab) Genentech/Novartis	humanizowane przeciwciało monoklonalne blokujące VEGF	III	degeneracja plamki żółtej dna oka

*RZS – Reumatoidalne zapalenie stawów

Niezwykle ważnym celem terapeutycznym dla nowych biofarmaceutyków są choroby układu krążenia takie jak: miażdżyca, choroba niedokrwienna serca i przewlekła niewydolność serca. Istnieją dowody, że w patogenezie miażdżycy ważną rolę odgrywa proces zapalny dotyczący ściany naczynia na którego rozwój i przebieg wpływają cytokiny prozapalne, m.in. IL-1, IL-6 i TNF-alfa. Nasilenie zmian miażdżycowych stwarza ryzyko zaostrzenia choroby niedokrwiennej, a w konsekwencji zawału serca. Także w przewlekłej niewydolności serca stwierdzono w surowicy krwi podwyższony poziom cytokin prozapalnych z grupy interleukin oraz TNF-alfa (27,28).

Na różnych etapach prowadzone są prace oceniające skuteczność biofarmaceutyków blokujących działania cytokin prozapalnych (np. etanercept) i stosowanych dożylnie immunoglobulin (poprawiających frakcję wyrzutową lewej komory serca u chorych z niedokrwinną i samoistną kardiomiopatią rozstrzeniową oraz powodujących wzrost wydolności wysiłkowej chorych) w skojarzeniu ze stosowanym dotychczas standardowym leczeniem. Muszą one być potwierdzone w badaniach klinicznych przeprowadzonych w dużych grupach chorych, z twardym punktem końcowym dotyczącym śmiertelności.

Innymi ważnymi celami terapeutycznymi dla nowych preparatów biofarmaceutycznych są:

- astma, będąca schorzeniem układu oddechowego o podłożu zapalnym,
- stwardnienie rozsiane – z nadprodukcją TNF-alfa, IL-6, IL-12 i IL-23 oraz
- gorączka u chorych przebywających na oddziałach intensywnej terapii, występująca z przyczyn innych niż zakażenia, a w powstaniu której odgrywają rolę cytokiny prozapalne – TNF-alfa, IL-1 i IL-6 (29-33).

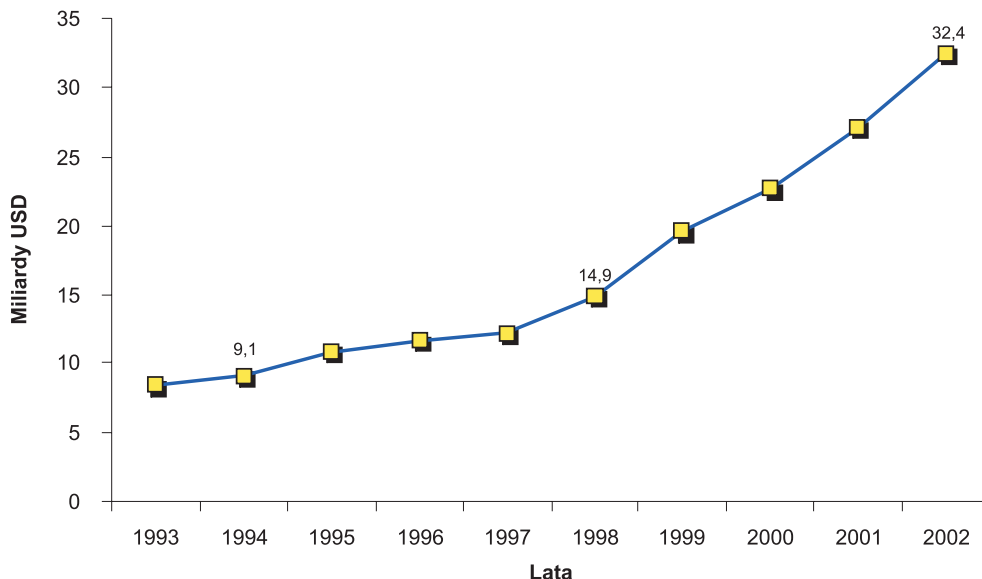
3. Światowy rynek biofarmaceutyków

W latach 1993-2002 światowy rynek biofarmaceutyków zwiększył się czterokrotnie z wartości sprzedaży od 8,4 mld USD w 1993 r. do 32,4 mld USD w roku 2002 (rys. 1).

Na wzrost ten wpłynęły m.in. następujące czynniki:

- znacząca liczba corocznie rejestrowanych biofarmaceutyków;
- efektywność terapeutyczna preparatów biofarmaceutycznych w obszarach niszowych (np. choroby nowotworowe, choroby autoimmunologiczne);
- wysoka cena biofarmaceutyków innowacyjnych w porównaniu do produktów istniejących;
- ograniczona liczba „biogeneryków” na rynku.

Biofarmaceutyki znalazły zastosowanie terapeutyczne w wielu dziedzinach medycyny. Największy udział tych preparatów dotyczy takich schorzeń jak: niedokrwistość, choroby nowotworowe, choroby zakaźne oraz cukrzyca i inne zaburzenia metaboliczne. Z roku na rok rośnie udział biofarmaceutyków w chorobach o podłożu immunologicznym.



Rys. 1. Wartość światowego rynku biofarmaceutyków w latach 1993-2002 (34).

W skali światowej w 2002 r. największy rynek biofarmaceutyków reprezentuje Ameryka Północna (58%, 18,8 mld USD), a w następnej kolejności Unia Europejska (22%, 7,1 mld USD) i Japonia (9%, 2,9 mld USD).

W latach 1998-2002 średnia szybkość wzrostu wartości rynku biofarmaceutyków była znacząco większa od pozostałych farmaceutyków. Wynosiła ona odpowiednio: w USA – 28,3% vs 14%, w Unii Europejskiej 19% vs 8,5% oraz w Japonii 5,2% vs 3,9% (34).

W drugiej połowie 2003 r. opublikowano porównawcze dane dotyczące światowego rynku białek terapeutycznych w latach 2001-2002 z uwzględnieniem poszczególnych klas farmaceutyków (tab. 7, rys. 2) (35). Zgodnie z przeprowadzonymi analizami światowy rynek terapeutycznych białek osiągnął w 2002 r. wartość 33 340 mln USD i był większy o 24% w porównaniu z rokiem 2001, w którym ogólna sprzedaż wynosiła 26 881 mln USD.

Tabela 7

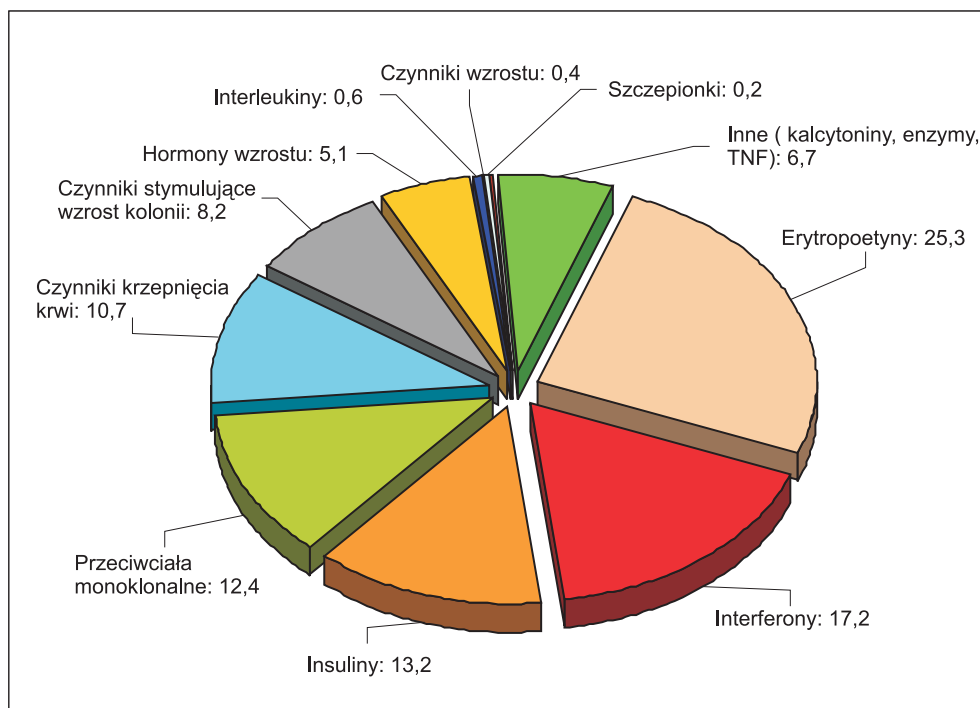
Światowa sprzedaż poszczególnych klas białek terapeutycznych, lata 2001-2002 (wg 35)

Klasa	Sprzedaż, 2001 (mln USD)	Sprzedaż, 2002 (mln USD)	Wzrost, 2001-2002 (%)
1	2	3	4
erythropoetyny	6702	8426	26
interferony	3923	5731	46
insuliny	3949	4400	11

1	2	3	4
przeciwciała monoklonalne	2997	4150	38
czynniki krzepnięcia krwi	3188	3565	12
czynniki stymulujące wzrost kolonii	2059	2739	33
hormony wzrostu	1652	1703	3
interleukiny	173	213	23
czynniki wzrostu	108	123	14
szczepionki terapeutyczne	50	68	36
inne	2080	2222	7
Ogółem	26 881	33 340	24

Największy, procentowy wzrost sprzedaży w latach 2001-2002 notowano w grupie interferonów (46%), przeciwciał monoklonalnych (38%) i czynników stymulujących wzrost kolonii (33%).

Erytropoetyny, interferony, insuliny i przeciwciała monoklonalne stanowiły ~ 68% światowego rynku biofarmaceutyków w 2002 r. (sprzedaż w każdej z grup



Rys. 2. Procentowy udział poszczególnych grup biofarmaceutyków w światowym rynku terapeutycznych białek, lata 2001-2002 (wg 35).

powyżej 4000 mln USD), w którym dominującą rolę stanowiły erytropoetyny mające 25,3% udział w rynku ze sprzedażą wynoszącą 8426 mln USD (tab. 8). Drugą, największą grupą białek terapeutycznych pod względem sprzedaży (5731 mln USD) i procentowego udziału w światowym rynku w 2002 r. (17,2%) były interferony (tab. 9). Wśród erytropoetyn dominowała epoetyna alfa stanowiąca 80% całkowitej sprzedaży tej grupy biofarmaceutyków. W grupie interferonów, dominowały interferony alfa, których wartość sprzedaży w 2002 r. wynosiła 3102 mln USD i była większa o 72% w porównaniu z rokiem 2001. Zdecydowanie mniejszy (21%) wzrost obserwowano w grupie interferonów beta, jakkolwiek ich sprzedaż w 2002 r. osiągnęła sumę 2473 mln USD i była o ~25% niższa od interferonów alfa. Na znaczący wzrost sprzedaży interferonów alfa w 2002 r. wpłynęło wprowadzenie na rynek ich pegylowanej formy o przedłużonym okresie biologicznego półtrwania. Ogólna sprzedaż interferonów w 2002 r. wynosiła 5731 mln USD i była o 46% większa w porównaniu z rokiem 2001. Był to największy wzrost sprzedaży wśród 10 grup białek terapeutycznych obecnych na rynku farmaceutycznym w 2002 r.

Tabela 8

Sprzedaż erytropoetyny, lata 2001-2002 (wg 35)

Nazwa międzynarodowa	Nazwa handlowa	Firma	Sprzedaż, 2001 (mln USD)	Sprzedaż, 2002 (mln USD)
Epoetyna alfa	Procrit, EPO, Eprex	Johnson & Johnson	3426	4269
Epoetyna alfa	Epogen	Amgen	2109	2261
Epoetyna beta	NeoRecormon	Roche	479	766
Epoetyna beta	Epogin	Chugai/Roche	455	530
Darbepoetyna alfa	Aranesp	Amgen	42	416
Epoetyna alfa	Espo	Sankyo	192	185*
Ogółem			6702	8426

* = wartość szacunkowa

Tabela 9

Sprzedaż interferonów, lata 2001-2002 (wg 35)

Nazwa międzynarodowa	Nazwa handlowa	Firma	Sprzedaż, 2001 (mln USD)	Sprzedaż, 2002 (mln USD)
1	2	3	4	5
Interferony alfa				
Interferon alfa-2b/ peg alfa 2b	rodzina Intron*	Schering-Plough	1447	2736
Interferon alfa	Roferon-A	Roche	135	115 ^e
Interferon alfa	Sumiferon	Sumitomo	116	101

1	2	3	4	5
peg Interferon alfa-2a	Pegasys	Roche	n/l	60
Interferon alfa	OIF	Otsuka	50	40 ^e
Interferon alfa	IFNalpha	Mochida	31	22 ^e
Interferon alfacon-1	Infergen	Amgen	14	20
Inne			6	8
Ogółem			1799	3102
Interferony beta				
Interferon beta-1a	Avonex	Biogen	972	1034
Interferon beta-1b	Betaseron/Betaferon	Schering AG	584	783
Interferon beta-1a	Rebif	Serono/Pfizer	380	549
Interferon beta	Feron	Daiichi	81	77 ^e
Interferon beta	IFNbeta	Mochida	31	30 ^e
Ogółem			2048	2473
Interferony gamma				
Interferon gamma	Actimmune	Genentech	36	106
Interferony gamma	Immukin	Boehringer Ingelheim	40	50 ^e
Ogółem			76	156

^e = wartość szacunkowa; n/l = nie wprowadzony na rynek;

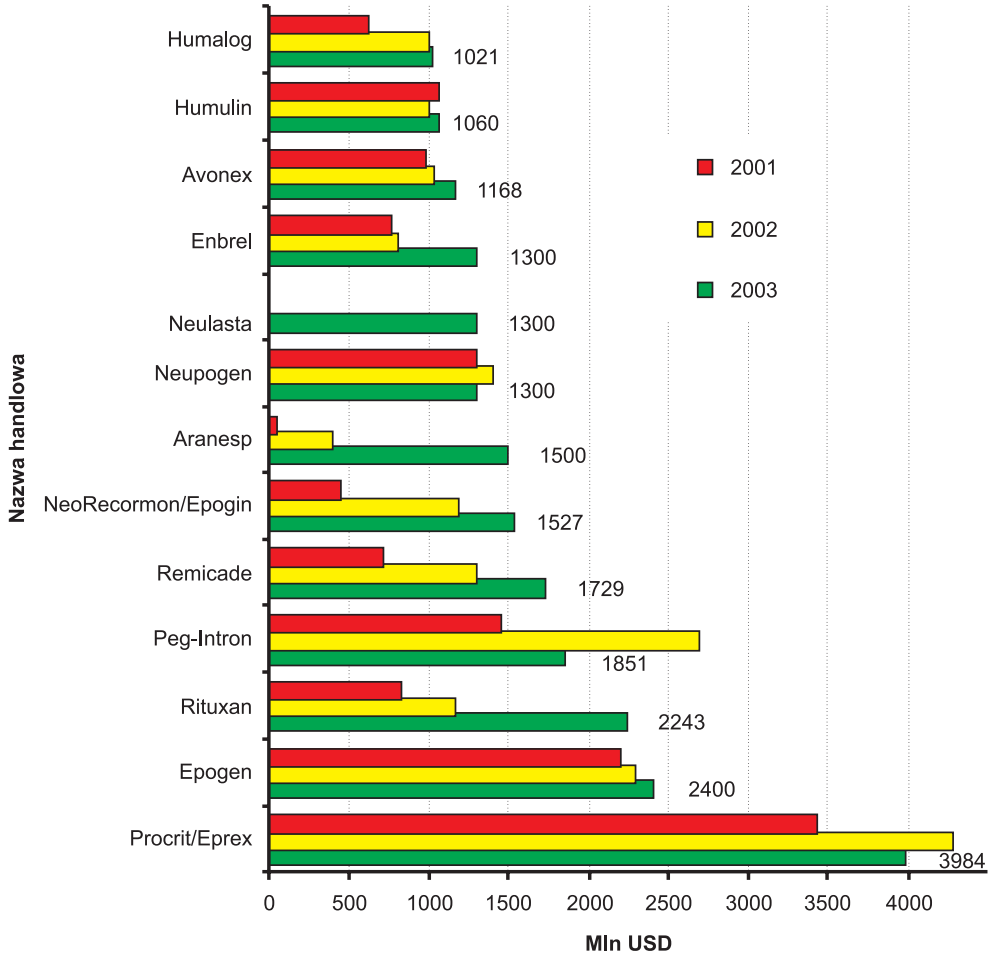
* = rodzina Intron – Intron A, Rebetron, Rebetol, PEG Intron

Jednym z najszybciej rozwijających się segmentów światowego rynku biofarmaceutycznego są terapeutyczne przeciwciała monoklonalne, w którym dominującą rolę odgrywa Ameryka Północna (81%), a w następnej kolejności Europa (16%) i Japonia (7%). W latach 1998-2002 notowano spektakularny wzrost sprzedaży z wartości około 500 mln USD w roku 1998 do około 4000 mln USD w 2002 r. (34). Głównymi preparatami w tej grupie biofarmaceutyków są: infliximab (Remicade) i rituximab (Rituxan), których łączna wartość sprzedaży w 2002 r. wyniosła 2572 mln USD (tab. 10).

Tabela 10

Sprzedaż głównych przeciwciał monoklonalnych w 2002 r. (wg 34)

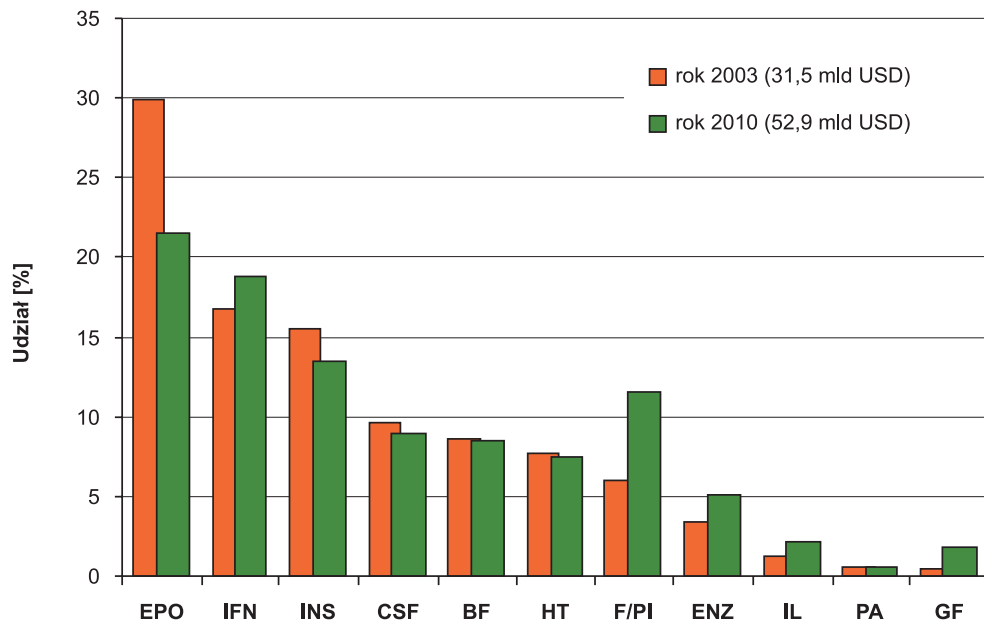
Preparat	Producent	Sprzedaż mln USD	Wzrost (%) 2001-2002
Remicade (infliximab)	Centocor	1418	70,3
Rituxan (rituximab)	Genentech/IDEC	1154	46,0
Synagis (palivizumab)	Medimmune	509	20,5
Herceptin (trastuzumab)	Genentech	482	93,5
ReoPro (abciximab)	Centocor	330	-12,8



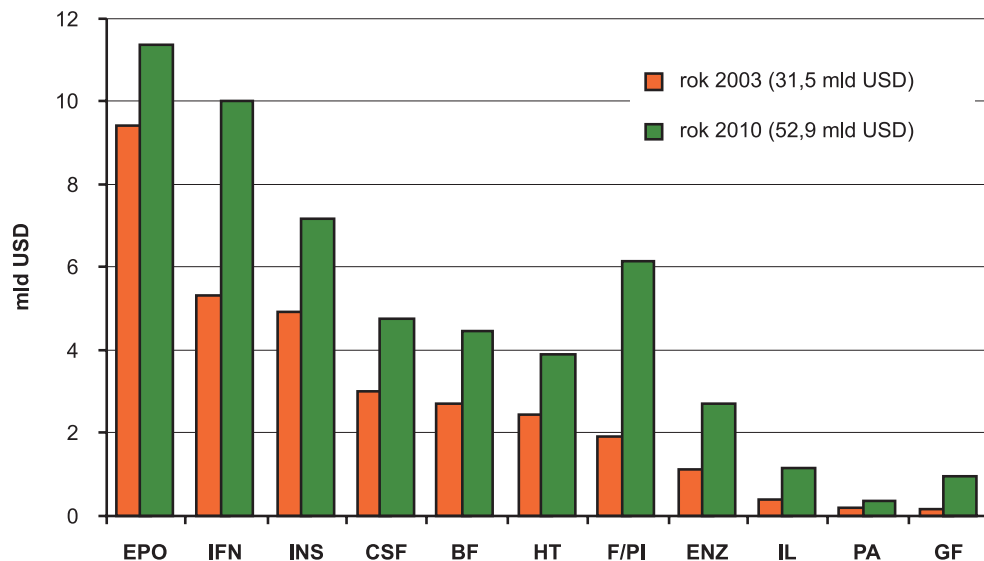
Rys. 3. Wartość sprzedaży głównych biofarmaceutyków w latach 2001-2003 (36).

Biorąc pod uwagę wartości sprzedaży głównych biofarmaceutyków w latach 2001-2003 (36) dwa pierwsze miejsca zajmowały erytropoetyny stosowane w niedokrwistości u chorych dializowanych i po chemioterapii nowotworowej.

Pegylowany interferon alfa z rybawiryną, będący obecnie lekiem z wyboru w terapii wirusowego zapalenia wątroby typu C i zajmujący 3 miejsce pod względem sprzedaży w roku 2001, przesunął się na 2 miejsce w roku 2002, natomiast w 2003 r. spadł na 4 miejsce na rzecz rituximabu, którego wartość sprzedaży w porównaniu z rokiem 2002 wzrosła o około 90%. Rituximab jest chimerycznym przeciwciałem monoklonalnym stosowanym w leczeniu chłoniaków nieziarniczych. Należy dodać, że wśród pierwszych pięciu biofarmaceutyków w latach 2002 i 2003 znajduje się drugie chimeryczne przeciwciało monoklonalne – infliximab, stosowany w różnych stadiach reumatoidalnego zapalenia stawów i w chorobie Crohna.



Rys. 4. Procentowy udział poszczególnych biofarmaceutyków w światowym rynku rekombinowanych białek w roku 2003 i prognoza na rok 2010 (wg 37). (EPO – erytropoetyny; IFN – interferony; INS – insulina; CSF – czynniki stymulujące wzrost kolonii; BF – czynniki krzepnięcia krwi; HT – leki hormonalne; F/PI – białka fuzyjne/inhibitory białek; ENZ – enzymy; IL – interleukiny; PA – tkankowe aktywatory plazminogenu; GF – czynniki wzrostu).



Rys. 5. Wartość sprzedaży poszczególnych biofarmaceutyków w światowym rynku rekombinowanych białek w roku 2003 i prognoza na rok 2010 (wg 37); (objaśnienia skrótów zob. rys. 4).

W maju 2004 r. opublikowano perspektywiczną analizę rynku biofarmaceutyków (37). Zawarto w niej m.in. dane dotyczące procentowego udziału (rys. 4) i wielkości sprzedaży (rys. 5) poszczególnych grup biofarmaceutyków (z pominięciem przeciwciał monoklonalnych) w światowym rynku tych leków w roku 2003 i szacunkowe dane odnoszące się do roku 2010.

W latach 2001-2003 światowy rynek białek rekombinowanych wzrósł z wartości 21,7 mld USD do 31,7 mld USD. Przewidywany jest dalszy wzrost do wartości 35,8 mld USD w roku 2004 i 53 mld USD w roku 2010. W 2010 r. sprzedaż erytropoetyn osiągnie wartość powyżej 11,4 mld USD i będzie stanowić ponad 20% ogólnego rynku biofarmaceutyków. Drugą grupą co do wielkości sprzedaży (10 mld USD) i udziału w rynku (około 19%) będą interferony, a następnie insuliny z wartością sprzedaży 7,2 mld USD i 13% udziałem w rynku. Udział tych 3 klas głównych leków rekombinowanych, stanowiący w sumie ponad 62% światowego rynku w roku 2003 zmniejszy się do 54% w roku 2010. Przewiduje się, że najszybciej rosnącą grupą biofarmaceutyków będą białka fuzyjne/inhibitory białek, których sprzedaż w 2010 r., w porównaniu z rokiem 2003 (1,9 mld USD), będzie trzykrotnie wyższa i osiągnie wartość 6,1 mld USD, a ich udział w rynku wzrośnie z 6 do 12%. Zdaniem analityków zajmujących się rynkiem przeciwciał monoklonalnych, w latach 2004-2008 nastąpi ponad 3-krotny wzrost udziału tych preparatów w rynku biofarmaceutyków (38). Jakkolwiek z punktu widzenia zastosowań terapeutycznych główną dziedziną medycyny dla stosowania przeciwciał monoklonalnych będzie nadal onkologia, z roku na rok rośnie ich rola głównie w terapii chorób immunologicznych o podłożu zapalnym, a ponadto w transplantologii, w terapii astmy i stwardnienia rozsianego.

Nowe gałęzie nauki wywierające zasadniczy wpływ na rozwój nowoczesnej biotechnologii – genomika, transkryptomika czy proteomika – dały badaczom uczestniczącym w procesie komercjalizacji nowych leków nowe narzędzia dla ich racjonalnego projektowania. Poznanie genomu człowieka – milowy krok w rozumieniu niezwykle złożonych interakcji genów i zakodowanych w nich białkach czy peptydach – przybliżyła nas do zastosowania tej wiedzy w terapii chorób nie tylko o podłożu genetycznym. Postęp w nauce, umożliwiający poznanie mechanizmu działania aktywnych biologicznie związków chemicznych na poziomie komórkowym wraz z rozwojem technologii 'omikowych', prowadzi stale do powstawania nowych leków, w nowych obszarach terapii i o poprawionych właściwościach ich nowych postaci farmaceutycznych. Już dziś są nowe biofarmaceutyki spełniające specyficzne kryteria kliniczne i przewyższające natywne białka właściwościami farmakokinetycznymi, stabilnością, bezpieczeństwem, selektywnością, zmniejszoną immunogennością, czy podwyższoną specyficznością. W ten sposób nauka zniósła ograniczenie biofarmaceutyków do prostego naśladowania zwykłej fizjologicznej roli białka (11), a ich stale rosnące zastosowania terapeutyczne przynoszą im coraz bardziej znaczącą pozycję na światowym rynku leków. Autorzy są zdania, że wkrótce pozycja ta stanie się dominująca, co przyspieszy rozwój nauki; dlatego planujemy tym przeglądem (omawiającym zastosowania terapeutyczne i rynek biofarmaceutyków) roz-

począć cykl artykułów o klinicznych działaniach już zarejestrowanych leków, jak i „kandydatów” na leki w najważniejszych klasach terapeutycznych. Pozwoli to, być może, na określenie najważniejszych kierunków spodziewanego rozwoju biotechnologii dla ochrony zdrowia.

Literatura

1. Steinberg F.M., Raso J., (1998), *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 1, 48-59.
2. The Biopharmaceutical Industry: Overview, Prospects and Competitiveness Challenges, (2001), <http://strategis.ic.gc.ca/epic/internet/inbio-pha.nsf/en/df00005e.html>
3. Chmiel A., (2000), *Farm. Pol.*, 56, 515-530.
4. Chmiel A., (2002), *Biotechnologia*, 59, 56-78.
5. Walsh G., (2000), *Nature Biotechnol.*, 18, 831-833.
6. Walsh G., (2003), *Biopharmaceuticals. Biochemistry and Biotechnology*, 2nd ed., John Wiley & Sons, Chichester.
7. Rader R. A., (2003), *Biopharma: Biopharmaceutical Products in the U.S. Market*, 2nd ed., Biotechnology Information Institute, Rockville.
8. *Biotechnologia farmaceutyczna*, (2000), red. Kayser O., Müller H., PZWL, Warszawa.
9. Walsh G., (2002), *New Drugs*, 2, 26-32.
10. Walsh G., (2004), *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 58, 185-196.
11. Szymkowski D. E., (2004), *DDT*, 9, 381-383.
12. Kieć-Kononowicz K., (2004), *Biotechnologia*, 3, 87-100.
13. Kohler G., Milstein C., (1975), *Nature*, 256, 495-497.
14. Das R. C., (2001), *Am. Clin. Lab.*, June, 9-14.
15. Reichert J., Pavlou A., (2004), *Nature Reviews/Drug Discovery*, 3, 383.
16. Reichert J. M., (2004), *DDT*, 9, 348.
17. Ross J. S., Gray K., Gray G. S., Worland P. J., Rolfe M., (2003), 119, 472-485.
18. 6th World Congress on Inflammation, (2003), 2-6 August, Vancouver, Canada.
19. Dinarello C. A., (2000), *Chest*, 118, 503-508.
20. Choy E. H. S., Panayi G. S., (2001), *N. Engl. J. Med.*, 344, 907-916.
21. Finesilver A. G., (2003), *Wisconsin Med. J.*, 102, 34-37.
22. Costello J. C., Halverson P. B., (2003), *Wisconsin Med. J.*, 102, 29-33.
23. Leonardi C. L., Powers J. L., Matheson R. T., Goffe B. S., Zitnik R., Wang A., Gottlieb A. B., for the Etanercept Psoriasis Study Group, (2003), *N. Engl. J. Med.*, 349, 2014-2022.
24. Kurtovic J., Segal I., (2004), *Trop. Gastroenterol.*, 25, 9-14.
25. Mease P. J., Antoni C. E., (2005), *Ann. Rheum. Dis.*, 64, Suppl. 2, ii78-82.
26. Winterfield L. S., Menter A., Gordon K., Gottlieb A., (2005), *Ann. Rheum. Dis.*, 64, Suppl. 2, ii87-90, discussion ii91-92.
27. Damås J. K., Gullestad L., Aukrust P., (2001), *Curr. Control Trials Cardiovasc. Med.*, 2, 271-277.
28. Andrzejczak D., Górská D., (2004), *Farm. Pol.*, 60, 339-347.
29. Holgate S. T., (2004), *Cytokine*, 28, 152-157.
30. Takizawa H., (1998), *Drug News Perspect.*, 11, 611-619.
31. Agrawal D. K., Bharadwaj A., (2005), *Curr. Allergy Asthma Rep.*, 5, 142-148.
32. Skurkovich S., Boiko A., Beliaeva I., Buglak A., Alekseeva T., Smirnova N., Kulakova O., Tchechoniin V., Gurova O., Deomina T., Favorova O. O., Skurkovic B., Gusev E., *Mult Scler.*, 7, 277-284.
33. Rice G. P., Hartung H. P., Calabresi P. A., (2005), *Neurology*, Apr 7, (Epub ahead of print).
34. Bibby K., Davis J., Jones C., IMS Global Consulting, (2003), *Biopharmaceuticals – Moving to Centre Stage.*, BioPeople North American Biotechnology Industry and Suppliers'Guide., 3-11.
35. The Therapeutic Proteins Outlook To 2007: An analysis of leading products and late stage pipeline developments. (August 2003), *Business Insights*.

36. http://www.bioinformation.de/business/rec_sales.htm
37. Recombinant Therapeutic Proteins: Delivering a \$53 Billion Mature Market by 2010, (May 2004), Datamonitor.
38. Therapeutic Antibodies: Capitalizing on the Fully Human Wave., (December 2003), Datamonitor.