



**PREHLAD SKUPÍN ANTIMIKROBIÁLNYCH TERAPEUTICKÝCH LÁTKOK NA  
BÁZE PEPTIDOV A PROTEÍNOV A ICH VYUŽITIE V TERAPII INFEKČNÝCH  
OCHORENÍ  
(PREHLADOVÝ ČLÁNOK)**

**OVERVIEW OF PEPTIDE- AND PROTEINS-BASED ANTIMICROBIAL  
THERAPEUTICS AND THEIR USE IN THE THERAPY OF INFECTIOUS DISEASES  
(REVIEW ARTICLE)**

**Kasičová, Zuzana<sup>1</sup>; Mochnáčová, Evelína<sup>1</sup>; Bhide, Mangesh<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratórium biomedicínskej mikrobiológie a imunológie UVLF, Komenského 73, 041 81 Košice

<sup>2</sup>Neuroimunologický ústav Slovenskej akadémie vied, Dúbravská cesta 9, 845 10 Bratislava  
Slovenská republika

evelina.mochnacova@uvlf.sk

## **ABSTRAKT**

Terapeutické látky na báze peptidov alebo proteínov pôsobia proti širokému spektru mikroorganizmov, a to najmä baktériám a vírusom. Medzi hlavné výhody terapeutických látok na báze peptidov patrí vysoká účinnosť, vysoká špecifickosť, menej časté liekové interakcie a nízka toxicita. Ich hlavným benefitom je to, že pri ich použití nedoriešajú sa k rezistencii v porovnaní s antibiotikami, ktoré sa najčastejšie využívajú na liečbu infekcií. Získavajú sa z prírodných zdrojov, ale častejšie sú produkované synteticky. Využitie týchto terapeutických látok nachádza svoje uplatnenie taktiež v boji proti vírusom. V tomto článku predstavujeme prehľad vybraných skupín terapeutických látok na báze peptidov a proteínov, ktoré postupne

nachádzajú uplatnenie v terapii infekčných ochorení.

**Kľúčové slová:** antimikrobiálne peptidy; baktérie; monoklonálne/polyklonálne protilátky; náhodne kombinované peptidy; nanoprotiľátky; vírusy

## **ABSTRACT**

Peptide- and protein-based therapeutic substances have been shown to be effective against a wide range of microorganisms, particularly bacteria and viruses. The primary benefits of peptide-based therapeutic agents include high efficacy, high specificity, fewer drug interactions, and low toxicity. Their main advantage is that, unlike an-

**tibiotics, they do not aggravate resistance. They are obtained from natural sources and could be produced synthetically in bulk. These therapeutic substances also find their application in the fight against viruses. This article provides an overview of selected groups of peptide- and protein based therapeutic substances that are gradually finding application in the treatment of infectious diseases.**

**Key words: antimicrobial peptides; bacteria; monoclonal and polyclonal antibodies; nanobodies; random peptide mixtures; viruses**

## ÚVOD

Objav a vývoj antibiotík bol jedným z najväčších úspechov medicíny v 20. storočí a umožnil liečbu mnohých infekčných chorôb. Nadužívanie antibiotík síce znížilo morbiditu a mortalitu ľudí a zvierat postihnutých bakteriálnymi agensami, ale na druhej strane viedlo k vzniku rôznych nežiaducich účinkov. Príkladom je pozorovaný nárast výskytu dysbiózy u novorodencov, vedúcej k vzniku alergických a autoimunitných porúch (Strzepa a kol., 2018). Nadmerné používanie antibiotík spojené s ich nevhodnou konzumáciou a aplikáciou spôsobilo nárast výskytu multirezistentných kmeňov baktérií (Medina a Pieper, 2016).

V súčasnej dobe narastá potreba identifikovať a vyvíjať nové liečivá schopné eliminovať patogény. Možnosti prináša výskum prírodných antibakteriálnych látok, ako aj synteticky pripravených antimikrobiálnych liečiv, u ktorých sa očakáva vysoký antimikrobiálny efekt v kombinácii s nízkym toxickým a alergickým účinkom na organizmus pacienta. Príkladom prírodných antibakteriálnych látok môže byť výskum neuropeptidov produkovaných v exokrinných žľazách určitých druhov obojživelníkov, ako napríklad u žiab rodu *Anura*. Viaceré z týchto neuropeptidov vykazujú chemickú a biologickú podobnosť s látkami produkovanými v tkanivách mozgu cicavcov (Cantalamessa a kol., 1986). Je dokázané, že rôzne druhy obojživelníkov produkujú peptidy

s rozdielnou primárnou štruktúrou aminokyselinovej sekvencie, a tým vytvárajú repertoár antimikrobiálnych peptidov s rozdielnou biologickou aktivitou na mikroorganizmy (Tennessen a kol., 2009). Takéto peptidy zohrávajú dôležitú úlohu v biologických procesoch prebiehajúcich počas infekcií. Ich výskum je dôležitý z dvoch dôvodov: 1) ich biologická aktivita je účinná a overená už milióny rokov; 2) tvoria kľúčové zložky vrodeneho imunitného systému, ktoré sú vo všeobecnosti potrebné pre existenciu stavovcov a bezstavovcov (Wang, 2015). Prírodne sa vyskytujúce antimikrobiálne látky boli dlhé obdobie považované za adekvátnu alternatívu k antibiotikám. Až jedna tretina zo všetkých novoschválených liečiv FDA (Food and drug administration, Správa potravín a liečiv) bola registrovaná ako látky antimikrobiálneho charakteru (Patridge a kol., 2016; Rossiter a kol., 2017). Avšak vzhľadom na výskyt určitých komplikácií pri aplikácii týchto liečiv, akými sú možná toxicita pre pacientov a ich nízka stabilita, nastala potreba vyvíjať nové molekuly s čo najvyššou mierou antibakteriálneho účinku a nízkou mierou nežiaducich účinkov po ich aplikácii. V tomto kontexte sa syntetické antimikrobiálne peptidy javia ako sľubná alternatíva prírodných antimikrobiálnych látok.

Revolúcia v produkcii monoklonálnych protilátok (mAb) v súčasnosti poskytuje mnoho nových možností liečby infekčných ochorení, a to predovšetkým pri tlmení vírusových infekcií. Sérová terapia bola jednou z prvých účinných terapií mikrobiálnych ochorení a už mnoho desaťročí je známy fakt, že špecifické protilátky majú početné antimikrobiálne vlastnosti.

V rámci tohto prehľadového článku budeme prezentovať rôzne typy terapeutických látok založených na báze peptidov alebo proteínov, ktoré sú roky známe a konvenčné, ale aj novovytvorené a ich potenciál pre uplatnenie je v rovine výskumu.

## I. Antimikrobiálne peptidy (AMP)

AMP sú génovo kódované malé proteíny, ktoré sa prirodzene nachádzajú vo väčšine organizmov ako súčasť ich imunitného systému (Maron a kol., 2022). Sú

štrukturálne rôznorodé, obsahujú vysoký podiel bá-  
zických aminokyselín a tvoria štruktúry alfa-helixu,  
prípadne beta-skladaného listu (Hancock a Diamond,  
2000). Spoločnými znakmi AMP je počet aminoky-  
selinových zvyškov medzi 10 a 60. Väčšina AMP má  
katiónový náboj (priemerný náboj: 3,32) (Malkoski  
a kol., 2001; Schitteck a kol., 2001); avšak vyskytujú  
sa aj AMP aniónovej povahy obsahujúce kyslé ami-  
nokyseliny, akými sú kyselina asparágová a kyselina  
glutámová (Lai a kol., 2007). Katiónové AMP pozos-  
távajú najčastejšie z 12 – 50 zvyškov aminokyselín s  
čisto kladným nábojom. Viac ako 50 % aminokyselín  
je hydrofóbnych, čo sa odráža v interakcii peptidov s  
bakteriálnymi membránami ako súčasť mechanizmu  
ich účinku (Hancock a Chapple, 1999). Vzhľadom na  
rýchlu dostupnosť AMP dôležitých najmä pre vro-  
dený imunitný systém predstavujú prvú líniu obra-  
ny (Ganz, 2003). AMP sú schopné zabíjať celý rad  
mikróbov vrátane baktérií, húb a parazitov (Vizioli  
a Salzet, 2002). Zároveň sú schopné generovať sa  
počas digestie proteínov získaných z potravy v gas-  
trointestinálnom trakte (Thammasirak a kol., 2010).  
Najúčinnejšie katiónové peptidy sa spájajú do mole-  
kúl, ktoré majú nabitú a oddelenú hydrofilnú časť od  
hydrofóbnych, buď ako amfifilné štruktúry, alebo ako  
katiónové dvojkrídlové štruktúry s hydrofóbnym jad-  
rom oddeľujúcim dva nabitú segmenty.

AMP boli detegované aj v mozgu, ktorý je zriedka-  
vo terčom mikrobiálnych infekcií. Mozog je chráne-  
ný hematoencefalickou bariérou (HEB) a mozgový-  
mi blanami (Nassif a kol., 2002). Baktericídne vlast-  
nosti HEB a mozgových blán nie sú známe, preto sa  
predpokladá, že práve AMP zohrávajú dôležitú úlohu  
v týchto bariérach. Príkladom je výskum Bergmana  
a kol. (2006), v ktorom pozorovali zvýšenú expresiu  
a produkciu AMP CRAMP (cathelin-related anti-  
microbial peptide) v mozgu a bunkách HEB myši in-  
fikovanej neuroinvasívnou baktériou *N. meningiti-  
dis*. Z výsledkov vyplýva, že CRAMP aktívne znižuje  
mieru meningokokovej infekcie centrálnej nervovej  
sústavy.

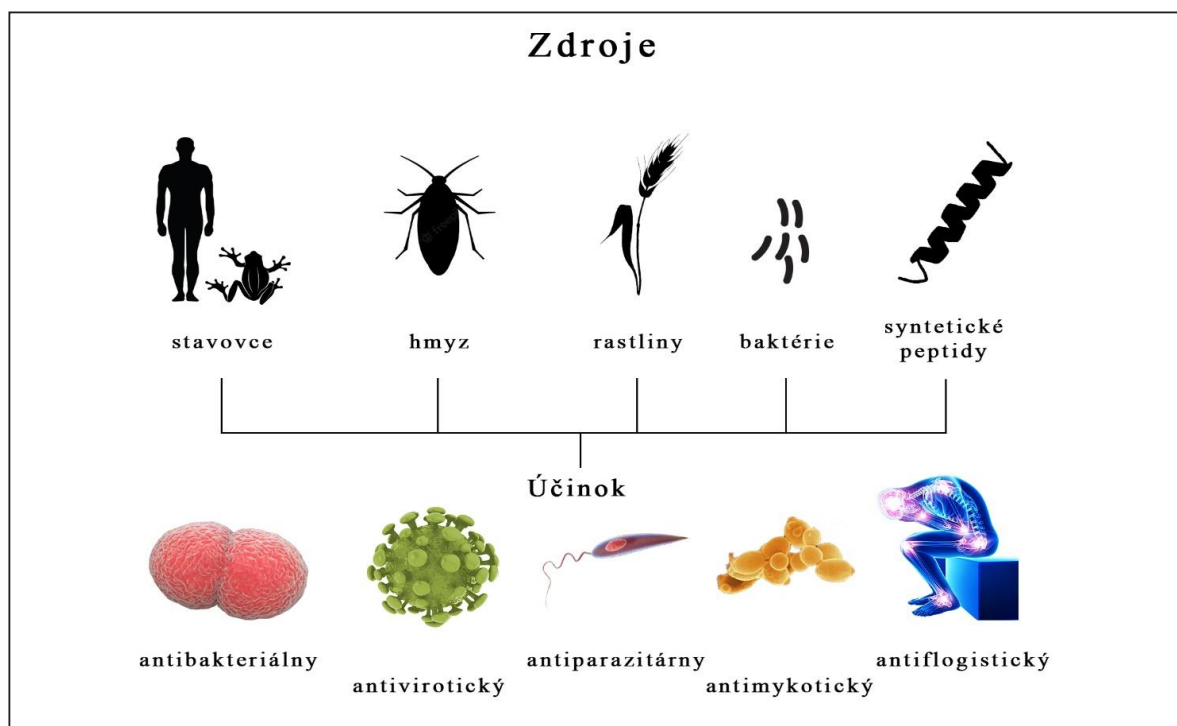
## Prírodné AMP

AMP poskytujú obranu proti patogénom a škodcov  
v rôznych hostiteľských organizmoch, od mikróbov  
až po zvieratá (Egorov a kol., 2005). Prírodné AMP  
existujú v rôznych molekulárnych formách, avšak  
najčastejšie ako lineárne peptidy. Primárne sú tieto  
peptidy získavané z prírodných zdrojov, akými sú  
baktérie, prvoky, huby, rastliny, bezstavovce a sta-  
vovce (viď obr. 1). Baktérie sú taktiež producentmi  
polycyklických peptidov – lantibiotií (Wang a kol.,  
2009).

Stavovce: v značnej miere produkujú peptidy s an-  
timikrobiálnym účinkom, akými sú defenzíny, kateli-  
cidíny, histatíny, protegríny atď. (Kavanagh a Dowd,  
2004; Schneider a kol., 2005). V rámci skupiny prí-  
rodných antimikrobiálnych látok sú defenzíny hlav-  
nou triedou obranných peptidov hostiteľa. Vykazujú  
imunomodulačné vlastnosti s antibakteriálnym, anti-  
vírusovým a antitumorigénym účinkom (Sahl a kol.,  
2005; Wilson a kol., 2013; Cools a kol., 2017). De-  
fenzíny majú veľkosť od 2 do 5 kDa a sú exprimova-  
né najmä neutrofilmi a epitelovými bunkami. Prvý ci-  
cavčí defenzín bol izolovaný z králičích makrofágov  
v roku 1980 (Patterson-Delafield a kol., 1981). U ľudí  
sa vyskytujú alfa a beta defenzíny, pričom bolo ziste-  
ných 6 beta-defenzínov (štyri pochádzajú z granulo-  
cytov a lymfocytov) a sú známe ako ľudské neutrofil-  
né peptidy (Lehrer, 2004). Defenzíny majú katiónovú  
povahu a ich štruktúra pozostáva z beta-skladaného  
listu, ktorý je stabilizovaný tromi konzervatívnymi  
intramolekulárnymi disulfidovými väzbami.

Histatíny zahŕňajú skupinu AMP, ktoré sa nachá-  
dzajú v slinách človeka a niektorých vyšších primá-  
tov. Ich veľkosť sa pohybuje v rozmedzí od 7 do 38  
aminokyselín. Sú vylučované slinnými žľazami (pod-  
sánkové a príušné) (Helmerhorst a kol., 1997). Majú  
antitumorigénny účinok. Ich mechanizmus účinku spo-  
číva v naviazaní na receptor bunkovej membrány  
húb, kde následne vstupujú do cytoplazmy smerom  
k mitochondriám. Mykotické bunky, ktoré sa aktívne  
podieľajú na dýchaní strácajú adenosíntrifosfát, čo  
môže vyvolať bunkovú smrť a zároveň vedie k tvorbe  
reaktívneho kyslíka. Ich využitie je možné pri liečbe

Obr. 1: Zdroje antimikrobiálnych peptidov a ich účinky



Prírodné a syntetické zdroje AMP a ich účinky. Klasifikácia vplyvu antibakteriálnych peptidov na rôzne typy organizmov.

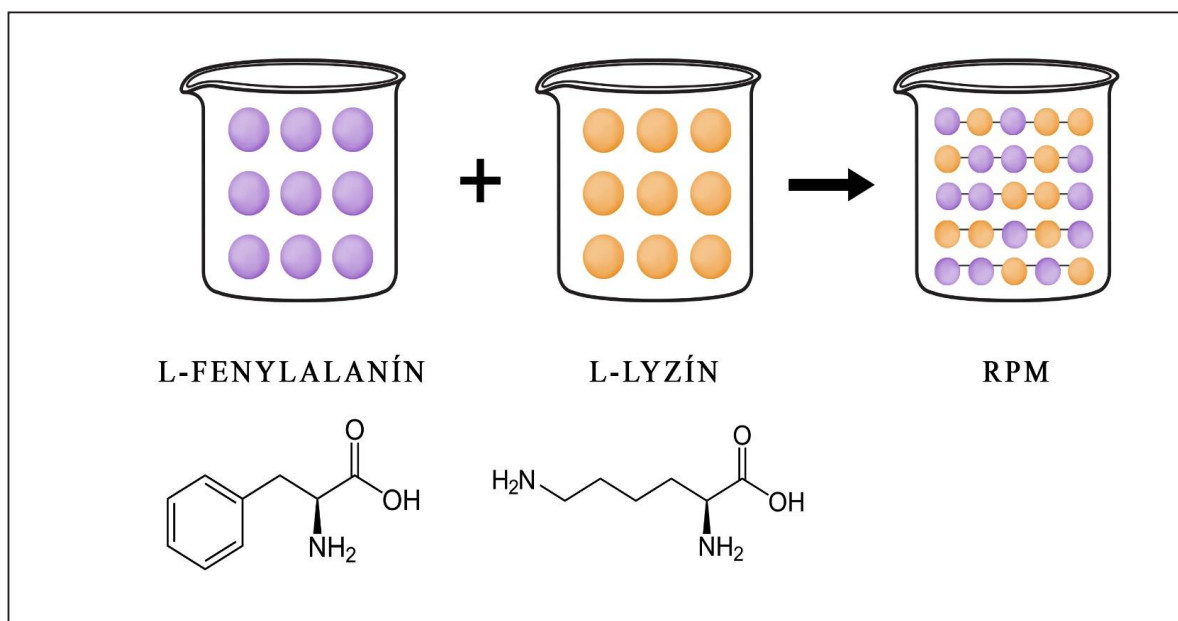
orálnych mykotických infekcií (Kavanagh a Dowd, 2004).

Ďalším významným AMP cicavcov je laktoferín. Tento 80-kDa glykoproteín má významné uplatnenie v procesoch vrodenej imunity. V rámci svojej biologickej aktivity pôsobí ako antimikrobiálne a antivirálné činidlo, antioxidant, imunomodulátor, modulátor bunkovej proliferácie atď. (Lonnerdal a Iyer, 1995; Brock, 1995). Prírodzene sa vyskytuje ako hlavná zložka mlieka, ale je taktiež prítomný aj v granulách neutrofilov alebo sekrétoch exokrinných žliaz (slzy, sliny, hlien krčka maternice). Zaujímavosťou je, že pomocou proteolytického štiepenia laktoferínu peptidom dochádza k vzniku laktofericínu B, ktorý inhibuje rast širokého spektra G<sup>+</sup> (*Proteus vulgaris*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Corynebacterium perocytogenesis*)

a G<sup>-</sup> baktérií (*Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae*). Laktofericín pôsobí antimikrobiálne prostredníctvom narušenia integrity bakteriálnej bunkovej membrány, pričom pôsobí synergicky s inými antimikrobiálnymi činidlami (Wakabayashi a kol., 2003). Na dosiahnutie antibakteriálneho účinku laktofericínu B je potrebná koncentrácia od 0,3 do 150 µg.ml<sup>-1</sup>, a to v závislosti od druhu baktérie a použitého média. Proti kmeňu *E. coli* O111:H18 bol účinný laktoferín v rozmedzí pH od 5,5 do 7,5. K inhibícii antibakteriálnej aktivity došlo v prítomnosti iónov Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup> a Ca<sup>2+</sup>. Medzi rezistentné druhy baktérií voči tomuto peptidu patria *Pseudomonas fluorescens*, *Enterococcus faecalis* a *Bifidobacterium bifidum* (Bellamy a kol., 1992).

Obojživelníky: v súčasnosti je všeobecne známe, že v rámci stavovcov práve pokožka obojživelníkov (predovšetkým žaby patriace do podčelade *Phyllo-*

Obr. 2: Schematické znázornenie princípu syntézy náhodne kombinovanej zmesi peptidov



Reakciou náhodných kombinácií aminokyselín (L-FENYLALANÍN a L-LYZÍN) vznikajú náhodné zmesi peptidov (RPM).

*medusinae*) produkuje široký repertoár prirodzených AMP všeobecne známych ako dermaseptíny (Patocka a kol., 2019; Casciaro a kol., 2020). Okrem svojej primárnej úlohy pri ochrane hostiteľa pred inváziou infekčnými mikroorganizmami môžu tieto peptidy vykazovať funkcie súvisiace s moduláciou imunitného systému hostiteľa, ako napr. neutralizácia endotoxínu a chemotaxie a zvýšenie imunitnej aktivity počas hojenia rán (van Harten a kol., 2018; Patocka a kol., 2019). V posledných desaťročiach bolo z kožného sekrétu obojživelníkov získaných viac ako 1000 rôznych AMP. Žaby produkujú najčastejšie temporíny (Ladram a Nicolas, 2016); pričom každý druh žaby je schopný vyprodukovať 10 – 20 AMP s rôznymi sekvenciami, veľkosťou a spektrom účinku. Sú heterogénnou triedou peptidov, ktoré majú spoločné tri znaky, a to kladný náboj (prítomnosť bázičných aminokyselín), minimálne 50 % zastúpenie hydrofóbných aminokyselín a sklon k tvorbe štruktúry alfa-helixu alebo beta-skladaného listu pri inte-

rakcii s fosfolipidovou membránou cieľovej bunky (Ladram a Nicolas, 2016). Kožné AMP obojživelníkov sú vysoko účinné voči rezistentným baktériám, prvokom, kvasinkám, hubám. Ich nevýhodou je náročný a nákladný výskum a vývoj, prípadne cytotoxicita. V rámci čeľade *Phyllomedusinae* bolo izolovaných 74 odlišných AMP. Napriek tomu, že sa tieto AMP od seba navzájom líšia v aminokyselinovom zložení, dĺžke sekvencií, miery hydrofóbnosti a distribúcie náboja, ich spoločným znakom je prítomnosť tryptofánu v konzervatívnej časti peptidu. Členovia tejto skupiny AMP majú charakter kationových peptidov, ktoré atakujú membránu po naviazaní na lipidy bunkovej steny a následne prechádzajú cez bunkovú stenu prostredníctvom prechodu tzv. coil-to-helix (Brand a kol., 2006). Väčšina AMP z tejto skupiny má baktériocídny účinok v mikromolárnych dávkach proti širokému spektru mikroorganizmov, a to pre G<sup>+</sup> a G<sup>-</sup> baktérie, huby a kvasinky. Na druhej strane vykazuje každý peptid určité variácie vo svojej an-

**Tab. 1: Príklady vybraných liečiv na báze polyklonálnych protilátok**

Názov lieku na báze pAb	Infekcia vyvolaná	Indikácie
BIG (botulinum immune globulin)	botulotoxín	liečba dojčiat
CMV-IGIV (cytomegalovirus immune globulin)	cytomegalovírus (CMV)	prevencia pri transplantácii orgánov
HBIG (hepatitis B immune globulin)	vírus hepatitídy B	prevencia pri transplantácii orgánov
HRIG (human rabies immune globulin)	vírus besnoty	po expozícii
ISG (immune serum globulin)	– vírus hepatitídy A – vírus hepatitídy B – osýpky	prevencia pri cestovaní/ po expozícii prevencia pri cestovaní/ po expozícii po expozícii
RSV-IGIV (respiratory syncytial virus immune globulin)	respiračný syncytiálny vírus	prevencia u vysoko ohrozených dojčiat
TIG (tetanus immune globulin)	tetanotoxín	po expozícii a liečbe

Zdroj: upravené podľa Graham a Ambrosino, 2015

timikrobiálnej aktivite. Výhodou je, že všetky dermaseptíny, okrem DRS-S4, nie sú alebo sú len slabotoxické pre cicavčie bunky. Antivirálny účinok bol potvrdený u dermaseptínov S1 – S5, ktoré vykazovali aktivitu proti herpes simplex vírusu a HIV-1, pričom ich aktivita bola pozorovaná už v malých dávkach narúšením viriónu (Lorin a kol., 2005).

**Rastliny:** AMP izolované z rastlín boli vyvinuté odlišne ako ostatné formy AMP. Rastlinné AMP sú bohaté najmä na cysteínové zvyšky, ktoré tvoria množstvo disulfidov. Tie im poskytujú vysokú chemickú, proteolytickú a tepelnú stabilitu. Do skupín sa klasifikujú na základe sekvencie cysteínu, ktorá určuje charakteristické formy disulfidových väzieb a terciárnu štruktúru. Medzi rastlinné AMP bohaté na cysteín patria defenzíny, tioníny, peptidy podobné heveínu (hevein-like peptides), proteíny na prenos lipidov, snakiný a ďalšie (Tam a kol., 2015). Približne 2 – 3 % expimovaných peptidov na báze cysteínu bolo prítomných v ryži siatej (*Oryza sativa*) a arábovke Thalovej (*Arabidopsis thaliana*) (Silverstein a kol., 2007). Mechanizmus účinku AMP pochádzajúcich z rastlín je odlišný ako pri živočíšnych AMP. Napríklad peptidy podobné heveínu viažu chitíny. Tzv. knottins peptides (komplexné peptidy stabilizované cystinovým uzlom s rôznorodou funkciou) inhibujú

proteázy a proteíny prenášajúce lipidy, čím zabraňujú prenikaniu mikroorganizmov cez membrány buniek (Tam a kol., 2015).

#### Syntetické antimikrobiálne peptidy (S-AMP)

Ďalšiu skupinu tvoria S-AMP (Wang a kol., 2009). Pre interakciu S-AMP je rozhodujúci kladný náboj peptidov s negatívnou časťou fosfolipidu. Hydrofóbná časť je nevyhnutná pre ich inkorporáciu do hydrofóbnej membrány. Helicita peptidu a nepolárna časť alfa-helixu sú dôležité pre úspešné včlenenie do membrány a následnú tvorbu pórov (Huang a kol., 2010). Objav fágového displeja Georgeom P. Smithom viedol k novej ére vo vývoji liečiv založených na báze peptidov (Smith, 1985). Vývoj kombinatoriálnej knižnice peptidov exprimovaných na povrchu bakteriofága otvoril nové možnosti vo výskume a vývoji antimikrobiálnych liečiv. Prostredníctvom technológie kombinatoriálneho fágového displeja bolo objavených mnoho AMP určených pre liečbu bakteriálnych a vírusových infekcií (Castel a kol., 2011; Flachbartova a kol., 2016; Mertinkova a kol., 2021). V súčasnosti komerčná spoločnosť New England Biolabs ponúka komerčne dostupné súpavy kombinatoriálnych peptidových knižníc, a to heptapeptidovú (Ph.D.<sup>TM</sup>-7), dodekapeptidovú (Ph.D.<sup>TM</sup>-12) a cyklickú heptapep-

tidovú knižnicu (Ph.D.<sup>TM</sup>-C7C). Knižnice Ph.D.<sup>TM</sup>-7 a Ph.D.<sup>TM</sup>-12 obsahujú peptidy v lineárnej forme, zatiaľ čo knižnica Ph.D.<sup>TM</sup>-C7C ponúka kombinácie 7-mérových peptidov usporiadaných do tvaru slučky (NEB). Výhodou nízkomolekulových peptidov je ich efektívna distribúcia do imunitne privilegovaných tkanív, ako sú centrálna nervová sústava, chrupavka, semenníky a iné. Tieto peptidy dokážu prechádzať cez prirodzené bariéry v tele a pôsobiť v mieste infekcie. V rámci vývoja antivirálnych peptidov sa kladie dôraz na efektívnu ligand-blokujúcu aktivitu. Peptid s vysokou špecifickou aktivitou k ligandu virálnej častice blokuje jeho adhéziu na receptory hosťiteľských buniek, a tým zabraňuje penetrácii vírusu do bunky. V neposlednom rade S-AMP môžu mať navrhnuté vlastnosti, ktoré nie sú bežne prítomné v prírodných peptidoch (Oliveir a kol., 2019).

Nové možnosti terapie infekčných chorôb prinášajú aj tzv. náhodne kombinované zmesi peptidov (random peptide mixtures – RPM), u ktorých bola potvrdená antimikrobiálna aktivita (Topman a kol., 2018; Topman-Rakover a kol., 2020). Tieto RPM sú produkované synteticky, a to náhodnou kombináciou dvoch aminokyselín majúcich kationóvu a hydrofóbnu povahu (viď obr. 2). Ich podskupinou sú aj krátke lipo-RPM, ktoré sú obohatené o kyselinu palmitovú. Napríklad RPM s názvom p-FdK5 pozostávajú z L-fenylalanínu a D-lyzínu, ktoré vytvárajú 5-merný lipo-RPM (Topman a kol., 2018). Tento lipoproteín má vysokú antibakteriálnu aktivitu proti niekoľkým bakteriálnym kmeňom. Okrem toho boli preštudované aj ďalšie možné kombinácie lipoproteínov zmesi p-FdK5. Zistilo sa, že ich antimikrobiálna aktivita je závislá od hydrofóbnej povahy peptidu a od umiestnenia hydrofóbných aminokyselín vzhľadom na kyselinu palmitovú. Pozitívne interakcie medzi rôznymi sekvenčne špecifickými lipopeptidmi z hľadiska antimikrobiálnej aktivity potvrdili testy synergizmu (Zieleniewski a kol., 2020). V testoch *in vivo* na myšiacich modeloch infikovaných *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa* bola sledovaná bakteriocídna aktivita RPM. Účinok bol pozorovaný pri bakteriémii (napr. akútna pneumónia). RPM môžu

byť uplatnené ako širokospektrálne terapeutiká proti patogénom, ktoré sú rezistentné na antibiotiká (Bennett a kol., 2021).

## II. Využitie protilátok v terapii vírusových ochorení

### Monoklonálne protilátky (mAb)

Prvé ľudské monoklonálne protilátky (mAb) boli produkované pred viac ako 30 rokmi. Tvorba prebiehala dvomi možnými technológiami. Prvou technológiou bol fágový displej s možným výberom antigén-špecifických väzbových prvkov z knižnic krvných lymfocytov. Na druhú technológiu produkcie mAb sa používali transgénne myši s integrovanými ľudskými imunoglobulínovými lokusmi (Ig) (Brüggemann a kol., 1989; Brüggemann a kol., 2015). Napriek tomu, že mAb z myši sú ľahko produkované, ich imunogenita u ľudí je vo veľkej miere obmedzená pre terapeutické účely (Co a kol., 1991). V praxi prvá mAb s myším fragmentom nebola účinná. Imunitný systém pacienta ju rozoznal totiž ako antigén. Následne došlo k tvorbe neutralizačných protilátok, ktoré limitovali účinnosť terapie.

Na produkciu transgénnych protilátok, ktoré sú príbuzné, prípadne rovnaké ako ľudské, je nevyhnutné rôznorodé preskupenie kombinované s vysokou expresiou variabilných (variable, V), rôznorodých (diversity, D) a spájajúcich (joining, J) segmentov génov ideálne z veľkého genofondu. Tieto vlastnosti boli použité vo vybraných líniiach hlodavcov, avšak neboli totožné s ľudskými konštruktami (Kellermann a Green, 2002). V súčasnej praxi sú dostupné vhodné alternatívy, ktoré eliminujú používanie zvierat pri produkcii mAb. Príkladom je využitie knižnic prezentujúcich protilátky (antibody displayed libraries), ktoré umožňujú izolovať protilátky s vysokou afinitou k antigénu. Tieto protilátky môžu byť následne produkované v expresných systémoch, akými sú cicavčie bunky, prokaryotické organizmy alebo kvasinky (de Moraes a kol., 2020).

## Využitie

Monoklonálne protilátky sa v súčasnosti uplatňujú pri terapii vírusových, bakteriálnych a onkologických ochorení. Okrem toho je možné ich využitie aj pri vakcinácii.

Špecifická liečba určitých vírusových infekcií je v súčasnosti zameraná prevažne na blokovanie väzbových ligandov. V tomto prípade sú často aplikované špecifické mAb. Je možné ich použiť ako neutralizačné protilátky, ktoré zabraňujú väzbe a vstupu vírusu do hostiteľskej bunky, vďaka čomu našli uplatnenie v liečbe akútnej fázy vírusových ochorení (Marasco a Sui, 2007). Avšak limitom môže byť vysoká špecifickosť mAb pre konkrétny kmeň, z čoho vyplýva zníženie neutralizačnej aktivity mAb pri mutáciách vírusu (Chao a kol., 2020).

## **Prehľad vírusov eliminovaných aplikáciou mAb**

### Respiračný syncyciálny vírus

Ludský respiračný syncyciálny vírus (respiratory syncytial virus, RSV, *Paramyxoviridae*, *Pneumovirus*) spôsobuje problémy dolných častí respiračného traktu najmä u starších a imunodeficientných pacientov (Falsey a Walsh, 2000) a predčasne narodených detí (Ventre a Randolph, 2007). U detí je hlavnou príčinou akútnych respiračných infekcií, pričom môže viesť k chorobnosti a úmrtnosti detí (Andabaka a kol., 2013).

Z antivirov sa na liečbu používa Ribavirín (Patterson a Fernandez-Larsson, 1990). K poklesu hospitalizácií malých detí v dôsledku RSV došlo vďaka terapii pomocou kombinácie purifikovaného IgG a palivizumabu (Fenton a kol., 2004). Palivizumab je humanizovaná mAb, ktorá sa využíva na prevenciu závažných ochorení dolných dýchacích ciest. Mechanizmus účinku je založený na blokovaní miesta na epitope antigénu. Vďaka tejto inhibícii dochádza k zastaveniu replikácie vírusu v nazálnej a tracheálnej časti dýchacieho traktu u dojčiat (Scott a Lamb, 1999).

### Vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti

V minulosti sa na terapiu syndrómu získanej imunodeficiencie (acquired immune deficiency syndrome

– AIDS) využívali mAb, ktoré boli účinné v terapii nádorových ochorení (Mitov a Terziiski, 1991). Protilátky uplatňujúce sa v liečbe infekcie spôsobenej vírusom ľudskej imunitnej nedostatočnosti (human immunodeficiency virus, HIV) majú viesť k neutralizácii vírusu alebo lýze infikovaných buniek, pričom by nemali zvyšovať infekciu (Forthal a kol., 1995). V rámci patogenézy vírusu sa obalový glykoproteín gp120 viaže na chemokínový receptor 5 (CCR5), čím dochádza k penetrácii HIV do CD4+ buniek (Lederman a kol., 2006). PRO 140 je ľudská mAb interagujúca s CCR5, ktorá pôsobí inhibične na vírus a blokuje jeho adhéziu (Murga a kol., 2006). V rámci terapie sa PRO 140 aplikuje pacientom subkutánne v týždňových až dvojtýždňových intervaloch. Vo všeobecnosti je liečba veľmi dobre tolerovaná (Jacobson a kol., 2010).

Trogarzo® je liek s účinnou mAb ibalizumab (Morrow, 2018). Bol navrhnutý tak, aby sa naviazal na CD4 receptor (cieľ), nachádzajúci sa na povrchu buniek T-lymfocytov. Spomaľuje šírenie HIV a odďaľuje poškodenie imunitného systému a vznik infekcie súvisiacej s chorobou AIDS. Jeho podávanie sa odporúča s antiretrovírusovými liekmi (Elliott a Chan, 2018).

Od HIV pozitívnych pacientov sa získavajú mAb GPL20 a GP41 (Banapour a kol., 1987) a polyklonálne lymfoblastoidné bunkové línie, pričom dochádza k vzniku mnohých anti-HIV pozitívnych klonov (Boyer a kol., 1991).

### Akútny respiračný syndróm

Akútny respiračný syndróm (severe acute respiratory syndrome – SARS-CoV-2) sa stal hlavným predmetom výskumu pre mnohé liečebné postupy vrátane aplikácie terapeutických mAb, ktoré možno použiť ako typ pasívnej imunoterapie na minimalizáciu virulencie (Hu a kol., 2021). MAb sa ukázali ako vhodní kandidáti na terapiu SARS-CoV-2. Sú zamerané na spike glykoproteín nachádzajúci sa na povrchu vírusu, pričom blokujú interakciu s angiotenzín-konvertujúcim enzýmom 2 (angiotensin-converting enzyme 2 – ACE2), čím bránia vstupu víru-



su do bunky (Passariello a kol., 2021). Nakoľko je ACE2 prítomný na povrchu mnohých typov buniek, blokovanie vírusovej častice je zabezpečené efektívne zastavenie replikačného cyklu vírusu (Ju a kol., 2020). Použitie monoklonálnych protilátok indukuje u pacienta taktiež imunitné reakcie vedúce k aktivácii špecifickej imunity, čím sa prispieva nielen k eliminácii infekčného agensu, ale taktiež aj k profylaxii (Lu a kol., 2020). Výhodou mAb oproti vakcínam je terapia už aj koronavírusom infikovaných pacientov. Je to obzvlášť výhodné pre vysoko rizikové skupiny pacientov (Marovich a kol., 2020). Zaujímavosťou je, že anti-SARS-CoV-2 mAb sú najčastejšie izolované z B-lymfocytov pacientov, ktorí nedávno prekonali infekciu COVID-19. V prvotných fázach pandémie boli použité aj protilátky získané od ľudí infikovaných SARS-CoV počas roku 2003. Do skupiny mAb, ktoré pochádzajú z buniek od COVID-19 rekonvalescentných pacientov patria bamlanivimab (LY-CoV555, Eli Lilly and Company, USA); etesevimab (LY-CoV016, Eli Lilly and Company, USA) a casirivimab/imdevimab (REGNCOV2, Regeneron Pharmaceuticals, USA) (Jones a kol., 2020).

#### Vírus besnoty

Besnote (pôvodca *Lyssavirus*) je možné predísť dôkladným vyčistením rany a podaním profylaktickej kombinácie vakcíny proti besnote a imunoglobulínu proti besnote (rabies immunoglobulin, RIG) (Rupprecht a Gibbons, 2004). Aj keď bol RIG prvýkrát použitý už v roku 1974, stále prebieha inovácia jeho molekulovej štruktúry, ktorá je ovplyvnená progresom v biotechnologickom priemysle (Rupprecht a kol., 2002). Rozoznávame dva typy RIG, a to ľudský RIG (HRIG) a konský RIG (ERIG). Sú vytvorené zo zmiešaného séra ľudských, prípadne konských darcov očkovaných proti vírusu besnoty. V súčasnosti je dostupných viac ako 11 ERIG a 12 HRIG z ľudskej plazmy (Chao a kol., 2020). WHO navrhlo mAb proti besnote ako praktickú alternatívu k RIG najmä v rozvojových krajinách. Potenciálne mAb sa ukazujú tie, ktoré neutralizujú vírus besnoty (Bakker a kol., 2005).

Pod pojmom kokteíl mAb rozumieme zmes niekoľkých mAb s požadovanými špecifikami v jednom liečivom produkte. Doposiaľ bolo vytvorených niekoľko protilátkových kokteíl, ktoré mali poskytnúť náhradu za ľudské polyklonálne protilátky. Kokteily mAb neutralizujúce vírus besnoty boli testované na *in vivo* modeloch (Morimoto a kol., 2001). Konkrétne kokteíl CL184 pozostáva z dvoch mAb (CR57 – ľudský IgG1 lambda a CR4098 – ľudský IgG1 kappa). Pôsobia proti odlišným, neprekrývajúcim sa epitopom vírusu besnoty, vďaka čomu navzájom nesúťažia o väzbové miesto na glykoproteíne vírusu (Bakker a kol., 2005; Marissen a kol., 2005). Tolerancia u pacientov po podaní mAb kokteilu CL184 bola veľmi priaznivá v porovnaní s intramuskulárnym podaním HRIG a ERIG (Lang a kol., 1998). Menej ako 40 % pacientov v každej testovanej skupine uvádzalo iba bolesť v mieste vpichu. Iné nežiaduce účinky neboli pozorované. Ďalšou výhodou je účinok v terapeutickú dávku menšej v porovnaní s HRIG a ERIG, čo uľahčuje infiltráciu požadovaného liečiva priamo do rany. Zároveň dochádza aj k lepšej tolerancii a úspešnosti liečby (Wilde, 2007).

Ďalšie možnosti terapie predstavuje kokteíl mAb SYN023. Je ekvimolárnou zmesou 2 humanizovaných monoklonálnych IgG1 kappa protilátok a CTB012.3 SYN023 komponentov. Tieto dve zložky sa nekompetitívne viažu na neprekrývajúce sa epitopy vo vysoko konzervovaných oblastiach glykoproteínu vírusu besnoty (McClain a kol., 2021).

Rýchly účinok sa dostaví aj po podaní kokteilu mAb RVC20 a RVC58. Je podávaný lokálne v mieste infekcie alebo priamo do CNS. Výhodou je to, že sa môže aplikovať aj po nástupe neurologických symptómov (de Melo a kol., 2022).

#### **Polyklonálne protilátky (pAb)**

Polyklonálne protilátky (polyclonal antibodies, pAb) sú heterogénne a viažu sa na vybrané epitopy. PAb sú zmesou protilátok, ktoré rozpoznávajú rôzne epitopy špecifického antigénu a môžu byť získané zo séra po umelej imunizácii hostiteľa. Majú schopnosť rozpoznať viacero epitopov, vyššiu citlivosť a afini-

tu v porovnaní s mAb. Sú tolerantnejšie voči malým zmenám antigénu (Ascoli a Aggeler, 2018). Nie sú špecifické v porovnaní s mAb (Stills, 2012). Polyklonálne imunoglobulíny, ktoré sa aplikujú intravenózne, pochádzajú od stoviek až tisícok ľudských darcov.

Prvé polyklonálne sérum bolo v imunoterapii použité v roku 1891 Emilom von Behringom a Shibasaburo Kitasom. Sérum bolo účinné pri liečbe záškrtu a pochádzalo z králikov, ktoré boli imunizované difterickým toxínom produkovaným baktériou *Corynebacterium diphtheriae* (Winau a Winau, 2002). Dodnes sa využíva v terapii mnohých ochorení, najmä tých, ktorých pôvodcami sú vírusy, bakteriálne toxíny a jedy. Séra svoje uplatnenie našli aj počas pandémie vtáčej chrípky v roku 1918. S objavom antibiotík záujem o terapiu bakteriálnych infekcií sérovou terapiou poklesol. Na druhej strane sa séra pAb využívali pri liečbe infekcií, proti ktorým dostupné antibiotiká neboli účinné. V tabuľke 1 sú zhrnuté použité liečivá na báze pAb proti vybraným infekčným agensom.

V súčasnosti sa na produkciu pAb najčastejšie využívajú stavovce, hlavne králiky (Caporale a kol., 2015). Ďalším spôsobom produkcie pAb je technológia TransChromo (TC). Princípom tejto metódy je zavedenie segmentov DNA vo väčšej veľkosti do buniek. TC Mouse™ je schopná exprimovať rozmanitý repertoár protilátok vrátane podtried IgG (IgG1 – IgG4) (Ishida a kol., 2002). Do tretej skupiny patrí transchromozomálny dobytok (TcB). Je upravený tak, aby došlo k vyradeniu lokusov hovädzieho ťažkého a ľahkého reťazca lambda a exprimovaniu nepreskupených lokusov ťažkého a ľahkého reťazca kappa ľudského imunoglobulínu z umelého ľudského chromozómu. Takýmto spôsobom dochádza k produkcii veľkého množstva plne humanizovaných antigénšpecifických pAb (Sano a kol., 2013; Hooper a kol., 2014).

Terapia pAb sa využíva v liečbe vírusových ochorení, proti ktorým nie sú účinné žiadne dostupné liečivá (Dixit a kol., 2016). Napríklad na terapiu akútnej hemoragickej horúčky (*Filoviridae*) sa v minulosti využívali séra od rekonvalescentných pacientov (Parren a kol., 2002). Nedávne štúdie zistili, že viacdávkový

system polyklonálneho IgG purifikovaného z rekonvalescentných sér je účinný pri podaní do 48 hodín po expozícii. Koktejl troch humanizovaných protilátok ZMapp bol účinný pri podaní do 5 dní (Dye a kol., 2012). Na tieto experimenty sa využíva TcB (Sano a kol., 2013; Hooper a kol., 2014).

### Ebola

Výhodou pAb je, že poskytujú okamžitú ochranu po expozícii patogénom v neprítomnosti vakcíny, prípadne keď sú hladiny imunitnej odpovede nízke. V prípade sérových protilátok sa terapeutický účinok dostaví na 10. – 14. deň po primárnej imunizácii a účinná ochrana môže vyžadovať opakovanú imunizáciu na udržanie vysokých hladín neutralizujúcich protilátok. Pasívna imunizácia špecifickými pAb alebo fragmentami proti agensom ochorenia má výhodu v tom, že ponúka klinickú ochranu ihneď po expozícii patogénom (Newcombe a Newcombe, 2007).

### Vtáčia chrípka

Vírusy vtáčej chrípky (*influenzavirus* kmene HPAI; H5N1 a H7N9) sú vysoko patogénne. Na ich liečbu sa využíval oseltamivir, avšak u HPAI a H5N1 došlo k rezistencii (Dixit a kol., 2013). V ohniskách výskytu bola úspešne aplikovaná liečba pomocou imúnnych sér (Wu a kol., 2010). V terapii sa využívajú aj pAb získané z oviec. Fragменты овчích pAb sa v súčasnosti uplatňujú v terapii ochorení spôsobenými influenza vírusmi. Sú vysoko účinné a finančne nenáročné pre produkciu v porovnaní s protilátkami získanými od koní a ostatných veľkých cicavcov. V tomto prípade predstavuje riziko kontaminácia spôsobená priónovými proteínmi. Z toho dôvodu sa využívajú najmä séra pochádzajúce z krajín ako je Austrália a Nový Zéland, ktoré sú bez výskytu priónových infekcií (Stevens a kol., 2016).

### Zika vírus

V súčasnosti nie sú dostupné žiadne liečivá, ktoré by bolo možné použiť v terapii Zika vírusu (*Flaviviridae*). Z pAb prebieha testovanie humánných ZIKV62-640 na myšiach. Pri týchto experimentoch

**Tab. 2: Porovnanie vlastností monoklonálnych a polyklonálnych protilátok**

	<b>Monoklonálne protilátky</b>	<b>Polyklonálne protilátky</b>
<b>Zdroj</b>	1 klon B-lymfocytov	zmes protilátok
<b>Rozoznávanie epitopov</b>	len 1 epitop	viacero epitopov
<b>Špecifickosť</b>	monošpecifické	polyšpecifické
<b>Produkcia</b>	v čase potreby (zložitá)	nie je obmedzená (jednoduchá)
<b>Cena</b>	finančne náročné	cenovo dostupné

je využívaný aj TcB. Zistilo sa, že terapeutická dávka 50 mg.kg<sup>-1</sup> ľudskej pAb podaná do 24 hodín po infekcii v myšacom modeli zabránila rozvoju ochorenia a úmrtnosti (Branche a kol., 2019).

### **Budúcnosť terapie pAb**

V ostatných rokoch dochádza k revolúcii v terapii liečivami na báze pAb (Saylor a kol., 2009). MAb majú výhodu v tom, že sú zamerané na jeden špecifický epitop patogéna, ktorý vyvoláva infekciu. Pri terapii pAb vznikajú polyvalentné interakcie, ktoré umožňujú aplikáciu liečebných postupov proti viacerým epitopom a antigénom (viď tab. 2). Ďalšou výhodou je to, že najviac imunogénne epitopy sú prirodzene vybrané hostiteľom. Vďaka tomu dochádza k vývoju a produkcii polyklonálnych produktov, ktoré sú zamerané na množstvo biochemických dráh (Bregenholt a Haurum, 2004). Farmaceutické spoločnosti sa sústreďujú na aktívnu imunoterapiu, vakcinačné stratégie využívajúce vírusové antigény, bakteriálne toxíny, prípadne bunkové faktory uvoľňujúce patogénne bunky, a to na vyvolanie vrodenej polyklonálnej protilátkovej odpovede v terapii mnohých ochorení, vrátane AIDS, rakoviny a alergií (Zagury a Gallo, 2004).

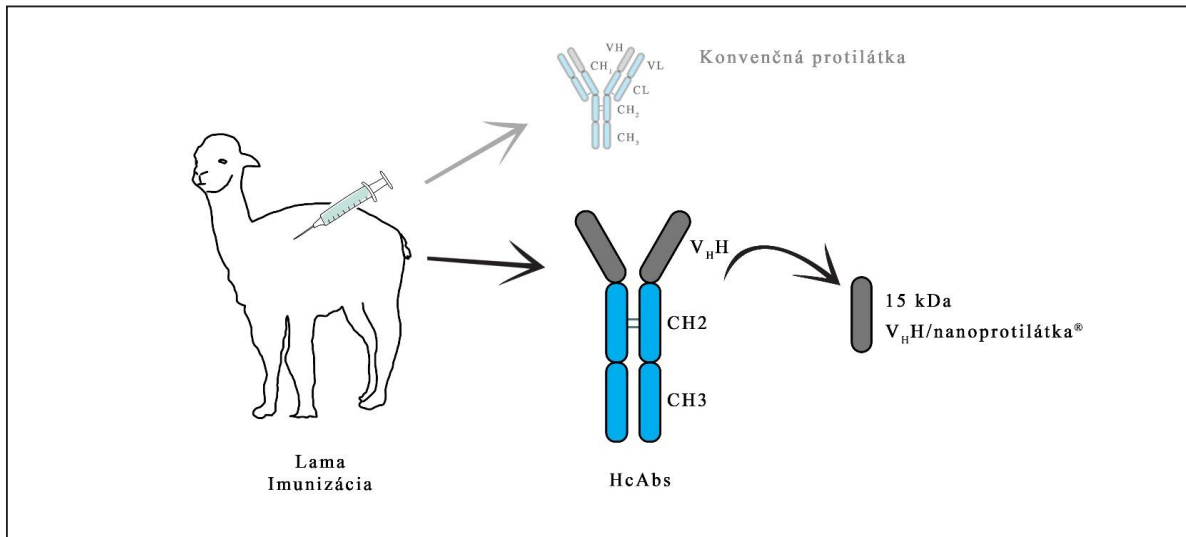
### **Nanoprotilátky (nAb)**

Nanoprotilátky<sup>®</sup> (nAb), tiež známe aj ako monodomérové protilátky, sú triedou proteínov pozostávajúcich z variabilného úseku ťažkého reťazca protilátok (variable domains of heavy-chain of antibody,

V<sub>H</sub>H) odvodených z čelade *Camelidae* (ľavovité). nAb viažu antigén a zároveň dosahujú porovnateľné vlastnosti väzbovej afinity a špecifickosti s klasickými protilátkami (Ruiz-López a Schuhmacher, 2021). Na ich produkciu je potrebná imunizácia ľavovitých zvierat, z ktorých sa následne izoluje špecifická väzbová oblasť (V<sub>H</sub>H). Zaujímavosťou je, že sérum ľavovitých je zdrojom ako konvenčných protilátok (pozostávajúcich z dvoch ťažkých a dvoch ľahkých reťazcov), tak aj iného typu protilátok tvoreného iba dvoma ťažkými reťazcami (heavy chain antibodies, HcAbs). Aj keď HcAbs postrádajú konštantnú časť ťažkého reťazca (CH1 región), stále obsahujú región V<sub>H</sub>H zodpovedný za špecifickú interakciu antigénu s protilátkou. Identifikáciou a produkciou týchto jedinečných, antigén-špecifických regiónov V<sub>H</sub>H získavame V<sub>H</sub>H protilátky, alebo ináč zvané nAb (Hamers-Casterman a kol., 1993) (viď obr. 3).

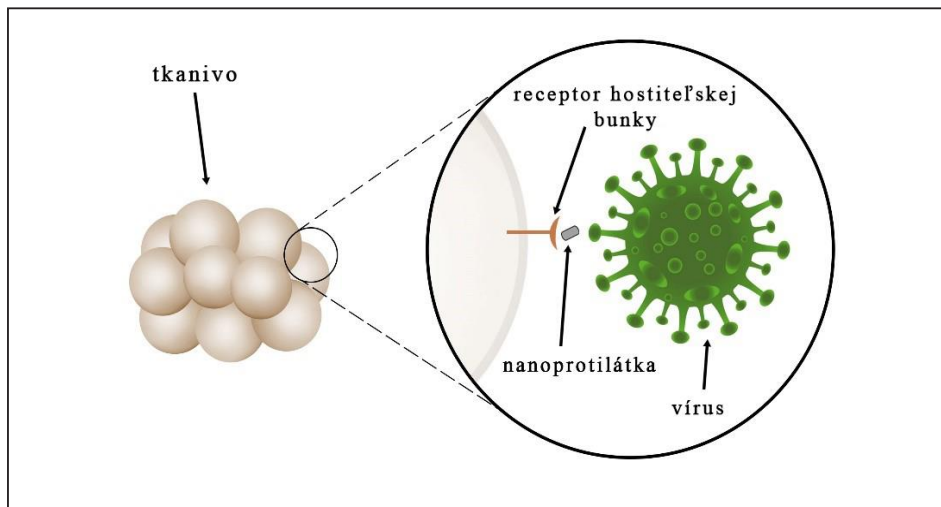
Oblasti V<sub>H</sub>H môžu byť amplifikované pomocou PCR na tvorbu menších fragmentov protilátok s plnou väzbovou schopnosťou. V porovnaní s konvenčnými protilátkami sú výkonnejšie kvôli ich nízkej hmotnosti (15 kDa), stabilite v nepriaznivých podmienkach (vysoké teploty, extrémne vysoké pH) a možnosti rekombinantnej produkcie (Hamers-Casterman a kol., 1993). V slučke nAb, ktorá viaže antigén, dominuje vyčnievajúca CDR3 (complementarity-determining region 3), ktorá tvorí konvexný paratop (De Genst a kol., 2006). Mechanizmus účinku nAb je schematicky znázornený na obrázku 4. Benefitom nAb je to, že sú schopné dosiahnuť aj štrbiny receptorov, prípadne

**Obr. 3: Izolácia nanoprotilátok®**



Imunizáciou zvierat patriaceho do čeľade ťavovitých (*Camelidae*) sa získavajú HcAbs, z ktorých sa identifikujú antigénšpecifické regióny V<sub>H</sub>H. Následne sa produkujú V<sub>H</sub>H nAb.

**Obr. 4: Mechanizmus účinku nanoprotilátky®**



Zablokovanie interakcie medzi receptorom a ligandom vírusu pomocou nanoprotilátky®.

väzbové miesta, ktoré sú pre bežné protilátky nedostupné. Taktiež vďaka svojej malej veľkosti dokážu voľne prechádzať cez prirodzené telové bariéry. NAb majú schopnosť rozpoznať jedinečné epitopy, napr.

konkávne, vďaka čomu je možné ich využitie v terapiách, kde konvenčné liečivá a protilátky zlyhávajú (Roovers a kol., 2007). Rovnaký stupeň identity V<sub>H</sub>H izolovaných zo zvierat ťavovitých je pozorovaný aj

v porovnaní s ľudským VH úsekom (Muyldermans, 2013; Kulkarni a kol., 2020). Ďalšou výhodou nAb je ich možný perorálny spôsob podania v porovnaní s konvenčnými protilátkami, ktoré sa aplikujú injekčnou formou (*i.v.*, *s.c.*) (Harmsen a kol., 2006).

V rámci výskumu boli nanoprotiľátky použité napríklad pre vývoj terapie proti HIV-1 (Bobkov a kol., 2018), RSV (Wang a kol., 2015) a SARS-CoV-2 (Esparza, Martín a kol., 2020).

## ZÁVER

Nadmerné užívanie antibiotík v medicíne a poľnohospodárstve viedlo k tomu, že mikroorganizmy odolné voči antibiotikám sú rozšírené v klinickom a environmentálnom prostredí. Bakteriálne patogény predstavujú hlavnú hrozbu pre verejné zdravie. AMP sú sľubnou alternatívou k tradičným antibiotikám. Najmä kombinácia AMP zabraňuje nárastu rezistencií. Protilátky sú významnou farmakologickou skupinou dôležitou pre klinickú prax a laboratórny výskum. Dôležitú úlohu pri výbere správnej terapeutickú látky zohráva aj náhoda, či daná látka bude terapeuticky vhodná pre pacienta. Výhody a limity mAb, ako aj pAb sme popísali v tomto článku. NAb a RPM vďaka svojej malej veľkosti, vysokej stabilite, zvýšenej hydrofilnosti a ľahkej priechodnosti tkanivami predstavujú terapeutiká novej generácie.

## POĎAKOVANIE

*Autori sú podporovaní grantami DSV-ITMS2014+ kód projektu NFP313010V455, APVV-18-0259, VEGA 1/0348/22.*

## ZOZNAM LITERATÚRY

Andabaka, T., J. W., Nickerson, M. X., Rojas-Reyes, J. D., Rueda, V., Bacic Vrca, V., Barsic, B.: Monoclonal antibody for reducing the risk of respiratory syncytial virus infection in children. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2013, 30 (4), Cd006602.

Ascoli, C. A., Aggeler, B.: Overlooked be-

nefits of using DNEclonal antibodies. *Biotechniques*, 2018, 65 (3), 127 – 136.

Bakker, A. B. H., Marissen, W. E., Kramer, R. A., Rice, A. B., Weldon, W. C., Niezgodna, M., Hanlon, C. A., Thijsse, S., Backus, H. H., Kruijff, J., Dietzschold, B., Rupprecht, C. E., Goudsmit, J.: Novel human monoclonal antibody combination effectively neutralizing natural rabies virus variants and individual *in vitro* escape mutants. *J. Virol.*, 2005, 79 (14), 9062 – 9068.

Banapour, B., Rosenthal, K., Rabin, L., Sharma, V., Young, L., Fernandez, J., Engleman, E., McGrath, M., Reyes, G., Lifson, J.: Characterization and epitope mapping of a human monoclonal antibody reactive with the envelope glycoprotein of human immunodeficiency virus. *J. Immunol.*, 2018, 139, 4027 – 4033.

Bellamy, W., Takase, M., Wakabayashi, H., Kawase, K., Tomita, M.: Antibacterial spectrum of lactoferricin B, a potent bactericidal peptide derived from the N-terminal region of bovine lactoferrin. *J. Appl. Bacteriol.*, 1992, 73 (6), 472 – 479.

Bennett, R. C., Oh, M. W., Kuo, S. H., Belo, Y., Maron, B., Malach, E., Lin, J., Hayouka, Z., Lau, G. W.: Random peptide mixtures as safe and effective antimicrobials against *Pseudomonas aeruginosa* and MRSA in mouse models of bacteremia and pneumonia. *ACS Infectious Diseases*, 2021, 7 (3), 672 – 680.

Bergman, P., Johansson, L., Wan, H., Jones, A., Gallo, R. L., Gudmundsson, G. H., Hökfelt, T., Jonsson, A. B., Agerberth, B.: Induction of the antimicrobial peptide CRAMP in the blood-brain barrier and meninges after meningococcal infection. *Infect. Immun.*, 2006, 74 (12), 6982 – 6991.

Bobkov, V., Zarca, A. M., Van Hout, A., Arimont, M., Doijen, J., Bialkowska, M., Toffoli, E., Klarenbeek, A., van der Woning, B., van der Vliet, H. J., Van Loy, T., de Haard, H., Schols, D., Heukers, R., M. J. Smit, M. J.: Nanobody-Fc constructs targeting chemokine receptor CXCR4 potently inhibit signaling and CXCR4-mediated HIV-entry and induce antibody effector functions. *Biochem. Pharmacol.*, 2018, 158, 413 – 424.

- Boyer, V., Broly, H., Souche, S., Madaule, P., Rossier, J., Zagury, D., Desgranges, C.: Characterization and large production of human monoclonal antibodies against the HIV-1 envelope. *Clin. Exp. Immunol.*, 1991, 83 (3), 452 – 459.
- Branche, E., Simon, A. Y., Sheets, N., Kim, K., Barker, D., Nguyen, A. T., Sahota, H., Young, M. P., Salgado, R., Mamidi, A., Viramontes, K. M., Carnelley, T., Qiu, H., Elong Ngonu, A., Regla-Nava, J. A., Susantono, M. X., Valls Cuevas, J. M., Kennedy, K., Kodihalli, S., Shresta, S.: Human polyclonal antibodies prevent zethal zika virus infection in mice. *Sci. Rep.*, 2019, 9, 9857.
- Brand, G. D., Leite, J. R., de Sá Mandel, S. M., Mesquita, D. A., Silva, L. P., Prates, M. V., Barbosa, E. A., Vinecky, F., Martins, G. R., Galasso, J. H., Kuckelhaus, S. A., Sampaio, R. N., Furtado, J. R. Jr., Andrade, A. C., Bloch, C. Jr.: Novel dermaseptins from *Phyllomedusa hypochondrialis* (Amphibia). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2006, 347 (3), 739 – 746.
- Bregenholt, S., Haurum, J.: Pathogen-specific recombinant human polyclonal antibodies: Biodefence applications. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2004, 4, 387 – 396.
- Brock, J.: Lactoferrin: a multifunctional immunoregulatory protein? *Immunol. Today*, 1995, 16 (9), 417 – 419.
- Brüggemann, M., Caskey, H. M., Teale, C., Waldmann, H., Williams, G. T., Surani, M. A., Neuberger, M. S.: A repertoire of monoclonal antibodies with human heavy chains from transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86 (17), 6709 – 6713.
- Brüggemann, M., Osborn, M. J., Ma, B., Hayre, J., Avis, S., Lundstrom, B., Buelow, R.: Human antibody production in transgenic animals. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*, 2015, 63, 101 – 108.
- Cantalamesa, F., de Caro, G., Epstein, A. N., Perfumi, M.: Effects of the tachykinins eledoisin and physalaemin on drinking behaviour in baby rats. In de Caro, G., Epstein, A. N., Massi, M. (Eds.) *The Physiology of Thirst and Sodium Appetite*. Boston, MA: Springer US, 1986, 37 – 42.
- Caporale, G., Silva, A., Peixoto, Z.: Chapter Six – Preparation of fluorescent antibody conjugate in rabbits. In Rupprecht, C., Nagarajan, T. (Eds.). *Current Laboratory Techniques in Rabies Diagnosis, Research and Prevention, Volume 2*. Academic Press, 2015, 57 – 68.
- Casciaro, B., Cappiello, F., Loffredo, M. R., Ghirga, F., Mangoni, M. L.: The potential of frog skin peptides for anti-infective therapies: the case of esculentin-1a(1-21)NH<sub>2</sub>. *Curr. Med. Chem.*, 2020, 27 (9), 1405 – 1419.
- Castel, G., Chteoui, M., Heyd, B., Tordo, N.: Phage display of combinatorial peptide libraries: application to antiviral research. *Molecules*, 2011, 16 (5), 3499 – 3518.
- Chao, T. Y., Zhang, S. F., Chen, L., Tsao, E., Rupprecht, C. E.: *In vivo* efficacy of SYN023, an anti-rabies monoclonal antibody cocktail, in post-exposure prophylaxis animal models. *Trop. Med. Infect. Dis.*, 2020, 5.
- Co, M. S., Deschamps, M., Whitley, R. J., Queen, C.: Humanized antibodies for antiviral therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, 2869 – 2873.
- Cools, T. L., Struyfs, C., Cammue, B. P., Thevissen, K.: Antifungal plant defensins: increased insight in their mode of action as a basis for their use to combat fungal infections. *Future Microbiol.*, 2017, 12, 441 – 454.
- De Genst, E., Silence, K., Decanniere, K., Conrath, K., Loris, R., Kinne, J., Muyldermans, S., Wyns, L.: Molecular basis for the preferential cleft recognition by dromedary heavy-chain antibodies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, 103 (12), 4586 – 4591.
- de Melo, G. D., Hellert, J., Gupta, R., Corti, D., Bourhy, H.: Monoclonal antibodies against rabies: current uses in prophylaxis and in therapy. *Curr. Opin. Virol.*, 2022, 53, 101 204.
- de Moraes, J. Z., Hamaguchi, B., Braggion, C., Speciale, E., Cesar, F., Soares, G., Osaki, J., Aguiar, R., Pereira, T.: Alternative methods to animal use for monoclonal antibody generation and production.

*Monoclonal antibodies*, 2020.

Dixit, R., Herz, J., Dalton, R., Booy, R.: Benefits of using heterologous polyclonal antibodies and potential applications to new and undertreated infectious pathogens. *Vaccine*, 2016, 34 (9), 1152 – 1161.

Dixit, R., Khandaker, G., Ilgoutz, S., Rashid, H., Booy, R.: Emergence of oseltamivir resistance: control and management of influenza before, during and after the pandemic. *Infect. Disord. Drug Targets*, 2013, 13 (1), 34 – 45.

Dye, J. M., Herbert, A. S., Kuehne, A. I., Barth, J. F., Muhammad, M. A., Zak, S. E., Ortiz, R. A., Prugar, L. I., Pratt, W. R.: Postexposure antibody prophylaxis protects nonhuman primates from filovirus disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, 109, 5034 – 5039.

Egorov, T. A., Odintsova, T. I., Pukhalsky, V. A., Grishin, E. V.: Diversity of wheat anti-microbial peptides. *Peptides*, 2005, 26 (11), 2064 – 2073.

Elliott, W., Chan, J.: Ibalizumab-uiyk injection (Trogarzo). *Internal Medicine Alert*, 2018, 40.

Esparza, T. J., Martin, N. P., Anderson, G. P., Goldman, E. R., Brody, D. L.: High affinity nanobodies block SARS-CoV-2 spike receptor binding domain interaction with human angiotensin converting enzyme. *Sci. Rep.*, 2020, 10 (1), 22 370.

Falsey, A. R., Walsh, E. E.: Respiratory syncytial virus infection in adults. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2000, 13 (3), 371 – 384.

Fenton, C., Scott, L. J., Plosker, G. L.: Palivizumab: a review of its use as prophylaxis for serious respiratory syncytial virus infection. *Paediatr. Drugs*, 2004, 6 (3), 177 – 197.

Flachbartova, Z., Pulzova, L., Bencurova, E., Potocnakova, L., Comor, L., Bednarikova, Z., Bhide, M.: Inhibition of multidrug resistant *Listeria monocytogenes* by peptides isolated from combinatorial phage display libraries. *Microbiol. Res.*, 2016, 34 – 41, 188 – 189.

Forthal, D. N., Landucci, G., Gorny, M. K., Zolla-Pazner, S., Robinson, W. E. Jr.: Functional activities of 20 human immunodeficiency virus type

1 (HIV-1)-specific human monoclonal antibodies. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 1995, 11 (9), 1095 – 1099.

Ganz, T.: Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2003, 3, 710 – 720.

Graham, B. S., Ambrosino, D. M.: History of passive antibody administration for prevention and treatment of infectious diseases. *Curr. Opin. HIV AIDS*, 2015, 10, 129 – 134.

Hamers-Casterman, C., Atarhouch, T., Muyldermans, S., Robinson, G., Hamers, C., Songa, E. B., Bendahman, N., Hamers, R.: Naturally occurring antibodies devoid of light chains. *Nature*, 1993, 363 (6428), 446 – 448.

Hancock, R. E., Chapple, D. S.: Peptide antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999, 43 (6), 1317 – 1323.

Hancock, R. E., Diamond, G.: The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defences. *Trends Microbiol.*, 2000, 8 (9), 402 – 410.

Harmsen, M. M., van Solt, C. B., van Zijderveld-van Bommel, A. M., Niewold, T. A., van Zijderveld, F. G.: Selection and optimization of proteolytically stable llama single-domain antibody fragments for oral immunotherapy. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, 72 (3), 544 – 551.

Helmerhorst, E. J., Van't Hof, W., Veerman, E. C., Simoons-Smit, I., Nieuw Amerongen, A. V.: Synthetic histatin analogues with broad-spectrum antimicrobial activity. *Biochem. J.*, 1997, 326 (Pt 1), 39 – 45.

Hooper, J. W., Brocato, R. L., Kwilas, S. A., Hammerbeck, C. D., Josleyn, M. D., Royals, M., Ballantyne, J., Wu, H., Jiao, J. A., Matsushita, H., Sullivan, E. J.: DNA vaccine-derived human IgG produced in transchromosomal bovines protect in lethal models of hantavirus pulmonary syndrome. *Sci. Transl. Med.*, 2014, 6 (264), 264ra162.

Hu, B., Guo, H., Zhou, P., Shi, Z. L.: Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2021, 19 (9), 141 – 154.

Huang, Y., Huang, J., Chen, Y.: Alpha-heli-

cal cationic antimicrobial peptides: relationships of structure and function. *Protein Cell*, 2010, 1, 143 – 152.

Ishida, I., Tomizuka, K., Yoshida, H., Tahara, T., Takahashi, N., Ohguma, A., Tanaka, S., Umehashi, M., Maeda, H., Nozaki, C., Halk, E., Lonberg, N.: Production of human monoclonal and polyclonal antibodies in TransChromo animals. *Cloning Stem Cells*, 2002, 4 (1), 91 – 102.

Jacobson, J. M., Thompson, M. A., Lalezari, J. P., Saag, M. S., Zingman, B. S., D'Ambrosio, P., Stambler, N., Rotshteyn, Y., Marozsan, A. J., Madson, P. J., Morris, S. A., Olson, W. C.: Anti-HIV-1 activity of weekly or biweekly treatment with subcutaneous PRO 140, a CCR5 monoclonal antibody. *J. Infect. Dis.*, 2010 (10), 201, 1481 – 1487.

Jones, B. E., Brown-Augsburger, P. L., Corbett, K. S., Westendorf, K., Davies, J., Cujec, T. P., Wiethoff, C. M., Blackbourne, J. L., Heinz, B. A., Foster, D., Higgs, R. E., Balasubramaniam, D., Wang, L., Bidshahri, R., Kraft, L., Hwang, Y., Žentelis, S., Jepson, K. R., Goya, R., Smith, M. A., Collins, D. W., Hinshaw, S. J., Tycho, S. A., Pellacani, D., Xiang, P., Muthuraman, K., Sobhanifar, S., Piper, M. H., Triana, F. J., Hendle, J., Pustilnik, A., Adams, A. C., Berens, S. J., Baric, R. S., Martinez, D. R., Cross, R. W., Geisbert, T. W., Borisevich, V., Abiona, O., Belli, H. M., de Vries, M., Mohamed, A., Dittmann, M., Samanovic, M., Mulligan, M. J., Goldsmith, J. A., Hsieh, C. L., Johnson, N. V., Wrapp, D., McLellan, J. S., Barnhart, B. C., Graham, B. S., Mascola, J. R., Hansen, C. L., Falconer, E.: LY-CoV555, a rapidly isolated potent neutralizing antibody, provides protection in a non-human primate model of SARS-CoV-2 infection. *bioRxiv.*, 2020.

Ju, B., Zhang, Q., Ge, J., Wang, R., Sun, J., Ge, X., Yu, J., Shan, S., Zhou, B., Song, S., Tang, X., Yu, J., Lan, J., Yuan, J., Wang, H., Zhao, J., Zhang, S., Wang, Y., Shi, X., Liu, L., Zhao, J., Wang, X., Zhang, Z., Zhang, L.: Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. *Nature*, 2020, 584 (7819), 115 – 119.

Kavanagh, K., Dowd, S.: Histatins: an-

timicrobial peptides with therapeutic potential. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2004, 56, 285 – 289.

Kellermann, S.-A., Green, L. L.: Antibody discovery: the use of transgenic mice to generate human monoclonal antibodies for therapeutics. *Current Opinion in Biotechnology*, 2002, 13 (6), 593 – 597.

Kulkarni, A., Mochnáčová, E., Majerova, P., Čurlík, J., Bhide, K., Mertinková, P., Bhide, M.: Single domain antibodies targeting receptor binding pockets of NadA restrain adhesion of *Neisseria meningitidis* to human brain microvascular endothelial cells. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2020, 7.

Ladram, A., Nicolas, P.: Antimicrobial peptides from frog skin: biodiversity and therapeutic promises. *FBL*, 2016, 21 (7), 1341 – 1371.

Lai, Y., Villaruz, A. E., Li, M., Cha, D. J., Sturdevant, D. E., Otto, M.: The human anionic antimicrobial peptide dermcidin induces proteolytic defence mechanisms in staphylococci. *Mol. Microbiol.*, 2007, 63 (2), 497 – 506.

Lang, J., Gravenstein, S., Briggs, D., Miller, B., Froeschle, J., Dukes, C., Le Mener, V., Lutsch, C.: Evaluation of the safety and immunogenicity of a new, heat-treated human rabies immune globulin using a sham, post-exposure prophylaxis of rabies. *Biologicals*, 1998, 26 (1), 7 – 15.

Lederman, M. M., Penn-Nicholson, A., Cho, M., Mosier, D.: Biology of CCR5 and its role in HIV infection and treatment. *Jama*, 2006, 296 (7), 815 – 826.

Lehrer, R. I.: Primate defensins. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2004, 2, 727 – 738.

Lonnerdal, B., Iyer, S.: Lactoferrin: molecular structure and biological function. *Annu. Rev. Nutr.*, 1995, 15, 93 – 110.

Lorin, C., Saidi, H., Belaid, A., Zairi, A., Balleux, F., Hocini, H., Bélec, L., Hani, K., Tangy, F.: The antimicrobial peptide dermaseptin S4 inhibits HIV-1 infectivity *in vitro*. *Virology*, 2005, 334 (2), 264 – 275.

Lu, R. M., Hwang, Y. C., Liu, I. J., Lee, C. C., Tsai, H. Z., Li, H. J., Wu, H. C.: Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases. *J.*



*Biomed. Sci.*, 2020, 27 (1), 1.

Malkoski, M., Dashper, S. G., O'Brien-Simpson, N. M., Talbo, G. H., Macris, M., Cross, K. J., Reynolds, E. C.: Kappacin, a novel antibacterial peptide from bovine milk. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001, 45, 2309 – 2315.

Marasco, W. A., Sui, J.: The growth and potential of human antiviral monoclonal antibody therapeutics. *Nat. Biotechnol.*, 2007, 25 (12), 1421 – 1434.

Marissen, W. E., Kramer, R. A., Rice, A., Weldon, W. C., Niezgodna, M., Faber, M., Slootstra, J. W., Melen, R. H., Clijsters-van der Horst, M., Visser, T. J., Jongeneelen, M., Thijsse, S., Throsby, M., de Kruif, J., Rupprecht, C. E., Dietzschold, B., Goudsmit, J., Bakker, A. B.: Novel rabies virus-neutralizing epitope recognized by human monoclonal antibody: fine mapping and escape mutant analysis. *J. Virol.*, 2005, 79, 4672 – 4678.

Maron, B., Friedman, J., Hayouka, Z.: Combination treatment can hinder the evolution of resistance to antimicrobial peptides. *bioRxiv*, 2022. DOI: 10.1101/2022.03.13.484126.

Marovich, M., Mascola, J. R., Cohen, M. S.: Monoclonal antibodies for prevention and treatment of COVID-19. *JAMA*, 2020, 324 (2), 131 – 132.

McClain, J. B., Chuang, A., Moore, S. M., Tsao, E.: Safety, pharmacokinetics, and neutralizing activity of SYN023, a mixture of two novel antirabies monoclonal antibodies intended for use in post-rabies exposure prophylaxis. *Clin. Pharmacol. Drug. Dev.*, 2021, 10, 807 – 817.

Medina, E., Pieper, D. H.: Tackling threats and future problems of multidrug-resistant bacteria. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2016, 398, 3 – 33.

Mertinkova, P., Mochnacova, E., Bhide, K., Kulkarni, A., Tkacova, Z., Hruskovicova, J., Bhide, M.: Development of peptides targeting receptor binding site of the envelope glycoprotein to contain the West Nile virus infection. *Scientific Reports*, 2021, 11 (1).

Mitov, I. G., Terziiski, D. G.: Immunoprophylaxis and immunotherapy of gram-negative sepsis and shock with antibodies to core glycolipids

and lipid A of bacterial lipopolysaccharides. *Infection*, 1991, 19, 383 – 390.

Morimoto, K., Schnell, M. J., Pulmanausahakul, R., McGettigan, J. P., Foley, H. D., Faber, M., Hooper, D. C., Dietzschold, B.: High level expression of a human rabies virus-neutralizing monoclonal antibody by a rhabdovirus-based vector. *Journal of immunological methods*, 2001, 252, 199 – 206.

Morrow, T.: Multidrug resistant HIV drug lauded, but clinical foundation not very deep. *Managed care (Langhorne, Pa.)*, 2018, 27 (6), 31 – 33.

Murga, J. D., Franti, M., Pevear, D. C., Maddon, P. J., Olson, W. C.: Potent antiviral synergy between monoclonal antibody and small-molecule CCR5 inhibitors of human immunodeficiency virus type 1. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006, 50, 3289 – 3296.

Muyldermans, S.: Nanobodies: natural single-domain antibodies. *Annu. Rev. Biochem.*, 2013, 82, 775 – 797.

Nassif, X., Bourdoulous, S., Eugène, E., Couraud, P. O.: How do extracellular pathogens cross the blood-brain barrier? *Trends Microbiol.*, 2002, 10, 227 – 232.

NEB. <https://www.ulab360.com/files/prod/manuals/201301/07/427552001.pdf>. Accessed January 15, 2023.

Newcombe, C., Newcombe, A. R.: Antibody production: polyclonal-derived biotherapeutics. *Journal of Chromatography B*, 2007, 848, 2 – 7.

Oliveira, J. T. A., Souza, P. F. N., Vasconcelos, I. M., Dias, L. P., Martins, T. F., Van Tilburg, M. F., Guedes, M. I. F., Sousa, D. O. B.: Mo-CBP(3)-PepI, Mo-CBP(3)-PepII, and Mo-CBP(3)-PepIII are synthetic antimicrobial peptides active against human pathogens by stimulating ROS generation and increasing plasma membrane permeability. *Biochimie*, 2019, 157, 10 – 21.

Parren, P. W., Geisbert, T. W., Maruyama, T., Jahrling, P. B., Burton, D. R.: Pre- and post-exposure prophylaxis of Ebola virus infection in an animal model by passive transfer of a neutralizing human antibody. *J. Virol.*, 2002, 76 (12), 6408 – 6412.

- Passariello, M., Gentile, C., Ferrucci, V., Sasso, E., Vetrei, C., Fusco, G., Viscardi, M., Brandi, S., Cerino, P., Zambrano, N., Zollo, M., De Lorenzo, C.: Novel human neutralizing mAbs specific for Spike-RBD of SARS-CoV-2. *Sci. Rep.*, 2021, 11, 11 046.
- Patočka, J., Nepovimova, E., Klimova, B., Wu, Q., Kuca, K.: Antimicrobial peptides: amphibian host defense peptides. *Curr. Med. Chem.*, 2019, 26, 5924 – 5946.
- Patridge, E., Gareiss, P., Kinch, M. S., Hoyer, D.: An analysis of FDA-approved drugs: natural products and their derivatives. *Drug Discov. Today*, 2016, 21, 204 – 207.
- Patterson, J. L., Fernandez-Larsson, R.: Molecular mechanisms of action of ribavirin. *Reviews of Infectious Diseases*, 1990, 12, 1139 – 1146.
- Patterson-Delafield, J., Szklarek, D., Martinez, R. J., Lehrer, R. I.: Microbicidal cationic proteins of rabbit alveolar macrophages: amino acid composition and functional attributes. *Infect. Immun.*, 1981, 31, 723 – 731.
- Roovers, R. C., Laeremans, T., Huang, L., De Taeye, S., Verkleij, A. J., Revets, H., de Haard, H. J., van Bergen en Henegouwen, P. M.: Efficient inhibition of EGFR signaling and of tumour growth by antagonistic anti-EGFR Nanobodies. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2007, 56, 303 – 317.
- Rossiter, S. E., Fletcher, M. H., Wuest, W. M.: Natural products as platforms to overcome antibiotic resistance. *Chem. Rev.*, 2017, 117, 12 415 – 12 474.
- Ruiz-López, E., Schuhmacher, A. J.: Transportation of single-domain antibodies through the blood-brain barrier. *Biomolecules*, 2021, 11 (8), 1131.
- Rupprecht, C. E., Gibbons, R. V.: Clinical practice. Prophylaxis against rabies. *N. Engl. J. Med.*, 2004, 351 (25), 2626 – 2635.
- Rupprecht, C. E., Hanlon, C. A., Hemachudha, T.: Rabies re-examined. *Lancet Infect. Dis.*, 2002, 2 (6), 327 – 343.
- Sahl, H. G., Pag, U., Bonness, S., Wagner, S., Antcheva, N., Tossi, A.: Mammalian defensins: structures and mechanism of antibiotic activity. *J. Leukoc. Biol.*, 2005, 77 (4), 466 – 475.
- Sano, A., Matsushita, H., Wu, H., Jiao, J. A., Kasinathan, P., Sullivan, E. J., Wang, Z., Kuroiwa, Y.: Physiological level production of antigen-specific human immunoglobulin in cloned transchromosomal cattle. *PLoS One*, 2013, 8 (10), e78119.
- Saylor, C., Dadachova, E., Casadevall, A.: Monoclonal antibody-based therapies for microbial diseases. *Vaccine*, 2009, 27 (Suppl 6), G38 – G46.
- Schitteck, B., Hipfel, R., Sauer, B., Bauer, J., Kalbacher, H., Stevanovic, S., Schirle, M., Schroeder, K., Blin, N., Meier, F., Rassner, G., Garbe, C.: Dermcidin: a novel human antibiotic peptide secreted by sweat glands. *Nat. Immunol.*, 2001, 2, 1133 – 1137.
- Schneider, J. J., Unholzer, A., Schaller, M., Schäfer-Korting, M., Korting, H. C.: Human defensins. *J. Mol. Med. (Berl.)*, 2005, 83 (8), 587 – 595.
- Scott, L. J., Lamb, H. M.: Palivizumab. *Drugs*, 1999, 58 (2), 305 – 311.
- Silverstein, K. A., Moskal, W. A. Jr., Wu, H. C., Underwood, B. A., Graham, M. A., Town, C. D., VandenBosch, K. A.: Small cysteine-rich peptides resembling antimicrobial peptides have been under-predicted in plants. *Plant J.*, 2007, 51 (2), 262 – 280.
- Smith, G. P.: Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. *Science*, 1985, 228 (4705), 1315 – 1317.
- Stevens, N. E., Hatjopoulou, A., Fraser, C. K., Alsharifi, M., Diener, K. R., Hayball, J. D.: Preserved antiviral adaptive immunity following polyclonal antibody immunotherapy for severe murine influenza infection. *Scientific Reports*, 2016, 6, 29 154.
- Stills, H. F.: Chapter 11 – Polyclonal Antibody Production. In Suckow, M. A., Stevens, K. A., Wilson, R. P. (Eds.). *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents*. Boston: Academic Press, 2012, 259 – 274.
- Strzepa, A., F. M. Lobo, F. M., Majewska-Szczepanik, M., Szczepanik, M.: Antibiotics and autoimmune and allergy diseases: causative factor or treatment? *Int. Immunopharmacol.*, 2018, 65, 328 –

341.

Tam, J. P., Wang, S., Wong, K. H., Tan, W. L.: Antimicrobial peptides from plants. *Pharmaceuticals*, 2015, 8 (4), 711 – 757.

Tennessen, J. A., Woodhams, D. C., Chaurand, P., Reinert, L. K., Billheimer, D., Shyr, Y., Caprioli, R. M., Blouin, M. S., Rollins-Smith, L. A.: Variations in the expressed antimicrobial peptide repertoire of northern leopard frog (*Rana pipiens*) populations suggest intraspecies differences in resistance to pathogens. *Dev. Comp. Immunol.*, 2009, 33 (12), 1247 – 1257.

Thammasirirak, S., Pukcothanung, Y., Preecharram, S., Daduang, S., Patramanon, R., Fukamizo, T., Araki, T.: Antimicrobial peptides derived from goose egg white lysozyme. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 2010, 151 (1), 84 – 91.

Topman, S., Tamir-Ariel, D., Bochnic-Tamir, H., Stern Bauer, T., Shafir, S., Burdman, S., Hayouka, Z.: Random peptide mixtures as new crop protection agents. *Microb. Biotechnol.*, 2018, 11 (6), 1027 – 1036.

Topman-Rakover, S., Malach, E., Burdman, S., Hayouka, Z.: Antibacterial lipo-random peptide mixtures exhibit high selectivity and synergistic interactions. *Chem. Commun. (Camb.)*, 2020, 56, 12053 – 12056.

van Harten, R. M., van Woudenberg, E., van Dijk, A., Haagsman, H. P.: Cathelicidins: immunomodulatory antimicrobials. *Vaccines (Basel)*, 2018, 6 (3).

Ventre, K., Randolph, A.: Ribavirin for respiratory syncytial virus infection of the lower respiratory tract in infants and young children. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2007.

Vizioli, J., Salzet, M.: Antimicrobial peptides versus parasitic infections? *Trends Parasitol.*, 2002, 18, 475 – 476.

Wakabayashi, H., Takase, M., Tomita, M.: Lactoferricin derived from milk protein lactoferrin. *Curr. Pharm. Des.*, 2003, 9, 1277 – 1287.

Wang, G.: Improved methods for classification, prediction, and design of antimicrobial peptides. *Methods Mol. Biol.*, 2015, 1268, 43 – 66.

Wang, G., Li, X., Wang, Z.: APD2: the updated antimicrobial peptide database and its application in peptide design. *Nucleic Acids Res.*, 2009, 37, D933 – D937.

Wang, S. M., He, X., Li, N., Yu, F., Hu, Y., Wang, L. S., Zhang, P., Du, Y. K., Du, S. S., Yin, Z. F., Wei, Y. R., Mulet, X., Coia, G., Weng, D., He, J. H., Wu, M., Li, H. P.: A novel nanobody specific for respiratory surfactant protein A has potential for lung targeting. *Int. J. Nanomedicine*, 2015, 10, 2857 – 2869.

Wilde, H.: Failures of post-exposure rabies prophylaxis. *Vaccine*, 2007, 25 (44), 7605 – 7609.

Wilson, S. S., Wiens, M. E., Smith, J. G.: Antiviral mechanisms of human defensins. *J. Mol. Biol.*, 2013, 425, 4965 – 4980.

Winau, F., Winau, R.: Emil von Behring and serum therapy. *Microbes Infect.*, 2002, 4 (2), 185 – 188.

Wu, J. T., Lee, C. K., Cowling, B. J., Yuen, K. Y.: Logistical feasibility and potential benefits of a population-wide passive-immunotherapy program during an influenza pandemic. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, 107 (7), 3269 – 3274.

Zagury, D., Gallo, R. C.: Anti-cytokine Ab immune therapy: present status and perspectives. *Drug Discovery Today*, 2004, 9 (2), 72 – 81.

Zieleniewski, F., Woolfson, D. N., Clayden, J.: Automated solid-phase concatenation of Aib residues to form long, water-soluble, helical peptides. *Chemical Communications*, 2020, 56, 12 049 – 12 052.