



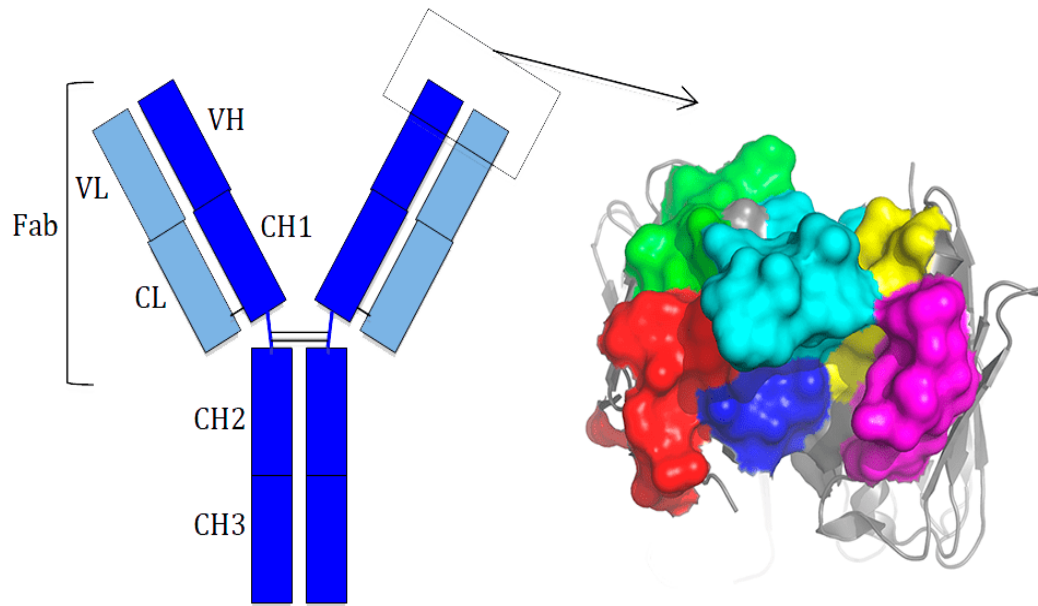
ВОЛГОГРАДСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА

Фармацевтический факультет

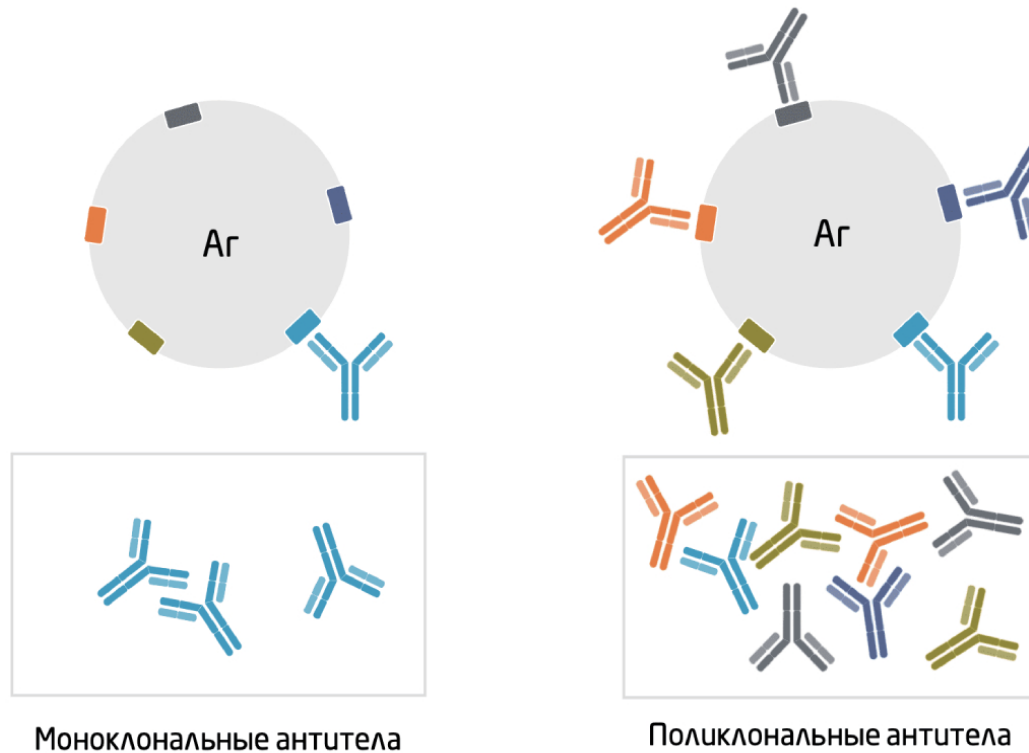
Моноклональное антитело (МАТ) — это иммуноглобулин с таргетной специфичностью к определенному антигену, продуцируемый стабильной клеточной линией. Клетки клона полностью идентичны, а вырабатываемые ими МАТ обладают одинаковой структурой и свойствами.

Строение антител обеспечивает способность антител узнавать конкретные антигены (осуществляется V-доменами) и взаимодействовать с клетками собственной иммунной системы - эффекторная функция антител (за нее ответственны С-домены).



Fab- fragment antigen binding -участок молекулы Ig, который связывает антиген. Он состоит из одного константного (C) и одного вариабельного (V) домена легкой и тяжелой цепей. Эти домены связывают эпитоп специфических антигенов

Отличие МАТ от поликлональных антител



МАТ-содержат продукт единственного клона плазматических клеток, направленный к строго определенной антигенной детерминанте, обладающий всегда одинаковыми физико- химическими характеристиками и сродством к антигену, характеризуются **высочайшей специфичностью, стандартностью и технологичностью получения**

Препараты поликлональных антител – это гетерогенное семейство антител, вырабатываемых разными клонами плазматических клеток к различным участкам одного и того же антигена, содержат большое разнообразие антител, **отличающихся своей специфичностью, аффинитетом и физико-химическими свойствами**

История разработок и этапы создания моноклональных антител

В 1975 году немецкий иммунолог **Жорж Келер**, изучавший генетическую изменчивость антител, и британский иммунолог **Сезар Мильштейн**, изучавший клоны опухолевых клеток (плазмоцитом), создали гибрид плазматической и опухолевой клеток, производящих антитела.

За разработку этой технологии им в 1984 г. была присуждена **Нобелевская премия**.

Моноклональные антитела впервые были получены от гибридной клетки (гибридомы), полученной из

- **антителообразующих В- лимфоцитов, стимулированных конкретным антигеном**
- **миелоидных (опухолевых клеток, происходящих из плазматических клеток-плазмацитомы), способных к неограниченному размножению в искусственных условиях.**

Гибридная клетка обладала **бессмертием опухолевой клетки и способностью к синтезу антител**, унаследованному от клетки нормальной.

Этапы получения гибридом

1. Иммунизация мышей выбранным антигеном. На пике антител у животных удаляли селезенку и гомогенизировали ткань для получения суспензии В-клеток, продуцентов антител против введенного антигена.

2. Культивирование опухолевых клеток Для гибридизации с В-лимфоцитами были отобраны только **мутантные** клетки плазмцитомы (миеломы), у которых имелся только **основной** путь синтеза нуклеотидов (из аминокислот), и отсутствовал фермент, который обеспечивает синтез нуклеотидов по запасному пути (из пуринов и пиримидинов)

3. Слияние опухолевых клеток с «нормальными» лимфоцитами. Клетки селезенки смешивали с клетками плазмцитомы в присутствии полиэтиленгликоля (ПЭГ) — полиэлектролита, способствующего слиянию клеточных мембран и образованию гибридных клеток. Гибридома сохраняла способность к клеточному делению, в процессе которого хромосомы обоих ядер перемешивались и образовывали одно общее ядро, содержащее гены обеих клеток-предшественников.

Этапы получения гибридом

4. Селекция гибридом.

Метаболическая селекция гибридов основывалась на том, что В-лимфоциты могут использовать два метаболических пути синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов: **основной** (из аминокислот и углеводных предшественников) и **резервный** (из гипоксантина (пурины) или дезокситимидина (пиримидины)).

Если основной метаболический путь синтеза нуклеотидов блокируется, то включаются в работу ферменты **гипоксантин-гуанидин-фосфорибозилтрансфераза (Г/ГФРТ)** и **тимидинкиназа**, что обеспечивает синтез нуклеотидов по запасному пути. Чтобы отделить заданную гибридому от других клеток, смесь клеток помещали в селективную среду (**ГАТ-среду**), содержащую **гипоксантин, аминоптерин и тимидин**, в которой блокировался (за счет токсичного **аминоптерина**) основной путь синтеза нуклеиновых кислот, что приводило к гибели **мутантных** опухолевых клеток, не обладавших резервным путем синтеза нуклеиновых оснований.

В-лимфоциты, способные расти в ГАТ-среде, будучи смертными, погибали естественным путем через 1–2 недели.

В селективной среде выживали только **гибридомные клетки**, сочетавшие свойства «бессмертных» опухолевых клеток и В-лимфоцитов

Этапы получения гибридом

5. Культивирование полученных гибридом с целью выделения клона, продуцирующего необходимые антитела.

Выжившие в ГАТ-среде клетки помещали в пластиковые планшеты на 96 лунок (в каждую лунку — по 10 гибридом). После нескольких дней культивирования клетки, содержащие антитела заданной специфичности, клонировали (повторно заносили в лунки из расчета 1 клетка на 1 лунку). Клетка-предшественник давала начало формированию «бессмертного» клона, продуцирующего моноклональные антитела.

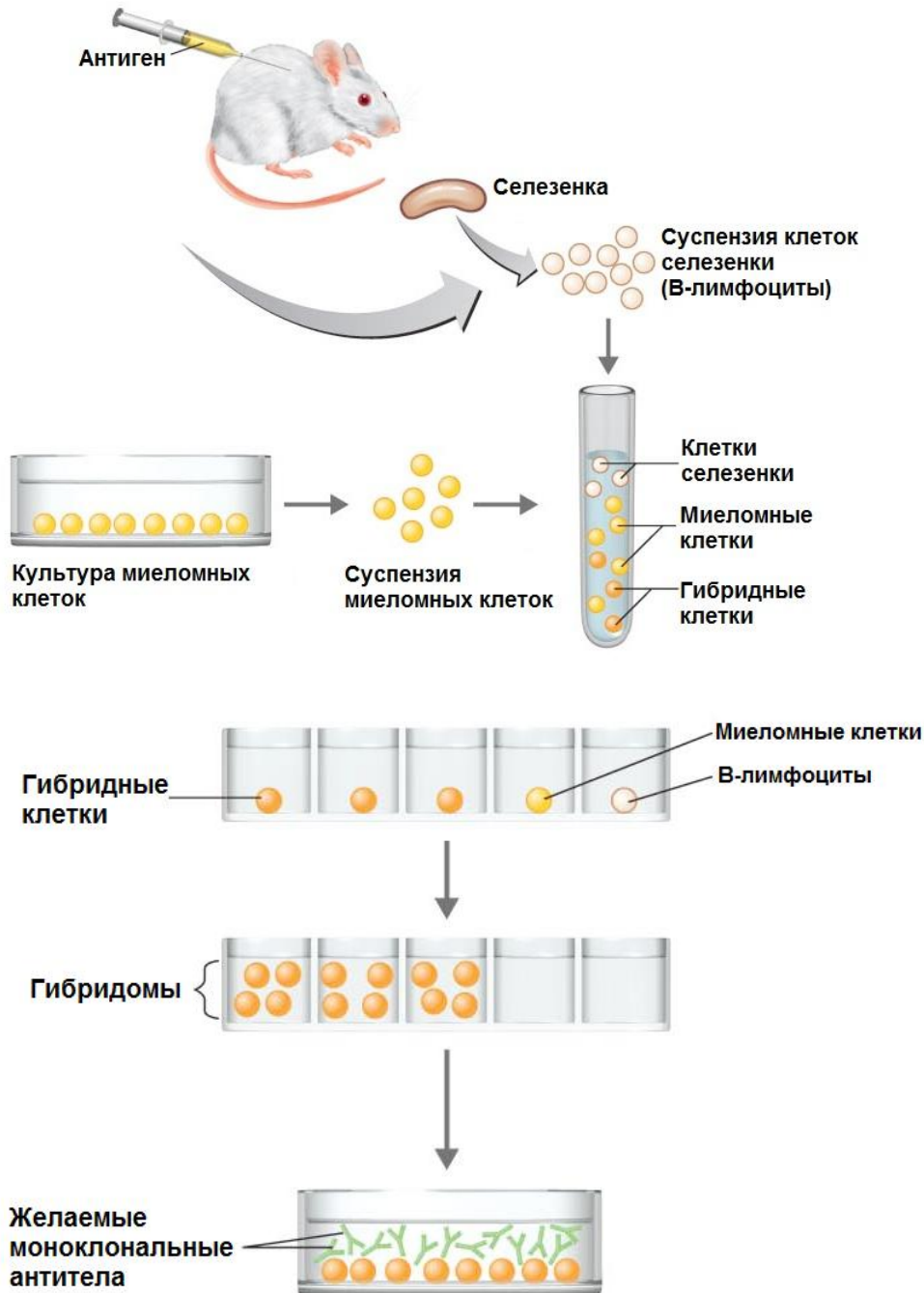
6. Изучение полученных гибридом -определение специфичности, аффинности и др.

7. Нарботка моноклональных антител *in vivo* (прививая клоны мышам) или *in vitro* (культивируя клоны в культуральной среде).

8. Очистка полученных антител.

Выбранные гибридомы могут длительно культивироваться для получения больших количеств однородных моноклональных антител. Для очистки используется аффинная и ионообменная хроматография.

Основные этапы получения гибридомы .



1. Мыши вводят специфический антиген, который вызывает продукцию антител против этого антигена.
2. Селезенка мышей удаляется и гомогенизируется для получения суспензии клеток. Эта суспензия содержит В-клетки, которые продуцируют антитела против введенного антигена.
3. Клетки селезенки затем смешивают с клетками миеломы, которые способны непрерывно расти в культуре, в них также отсутствует резервный путь синтеза нуклеотидов.
4. Некоторые из антитело-продуцирующих клеток селезенки и клетки миеломы сливаются, образуя гибридные клетки. Эти гибридные клетки теперь способны непрерывно расти в культуре, а также продуцировать антитела.

5. Смесь клеток помещают в селективную среду, которая позволяет расти только гибридным клеткам. Погибают не слившиеся миеломные клетки и В-лимфоциты.
6. Гибридные клетки пролиферируют, образуя клон гибридом. Гибридомы проверяются на продукцию нужных антител.
7. Выбранные гибридомы затем культивируют для получения больших количеств моноклональных антител.

Типы моноклональных антител

Мышиные антитела состоят полностью из белка мыши, обладают высокой иммуногенностью, недостаточно эффективны в реализации механизма уничтожения клетки-мишени, быстро выводятся из организма. В 1988 г. британский биохимик **Грег Винтер** разработал методику «очеловечивания» моноклональных антител.

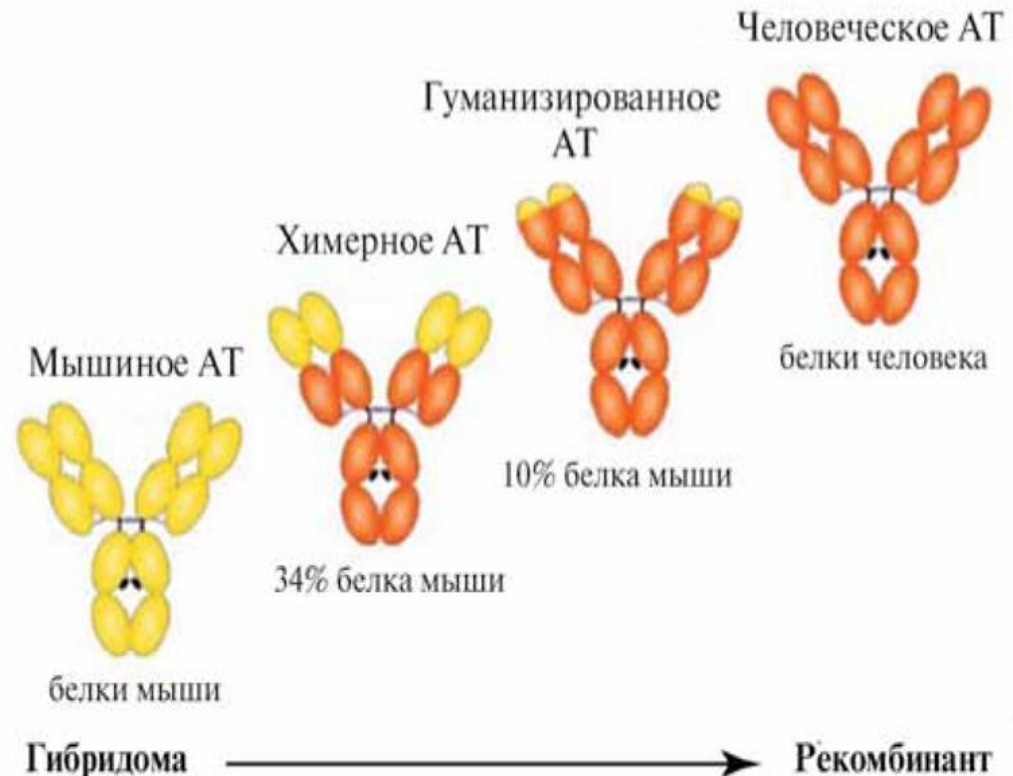
Химерные антитела — это антитела, в котором его константный домен, который обладает иммуногенными и эффекторными свойствами, заменен на иммуноглобулин человека, а вариабельный домен, который специфически взаимодействует с антигеном, останется мышинным.

Гуманизированные антитела на 90-95% состоит из человеческого иммуноглобулина. Мышиными в них остаются только гипервариабельные участки ответственные за связывание АТ с антигеном.

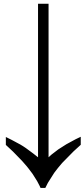
Рекомбинантные

человеческие антитела, в которых вариабельные домены тяжелых и легких цепей антитела человека комбинируются с константными доменами антитела человека.

Человеческие МАТ обладают самой низкой иммуногенностью



Номенклатура препаратов моноклональных антител

Иммуногенность		Тип	Доля последовательности, %		INN окончание
			Мышь	Человек	
с н и ж а е т с я		Мышиные	100	0	момаб <i>муриномаб</i>
		Химерные	33	67	ксимаб <i>ритуксимаб</i> <i>инфликсимаб</i>
		Гуманизированные	5-10	90-95	зумаб <i>даклизумаб</i>
		Человеческие	0	100	умаб <i>сарилумаб</i>

Механизм действия МАТ

- блокирование специфической мишени, играющей роль в патогенезе болезни, выведение или нейтрализация патогена.**
- блокирование провоспалительной активности цитокинов**
- торможение процессов активации и взаимодействия иммунокомпетентных клеток**
- элиминирование субпопуляции иммунных клеток, участвующих в воспалении.**

Первые изученные и описанные клинические мишени МАТ

- фактор некроза опухоли альфа (**ФНО α**) (задействован в системных аутоиммунных заболеваниях)
- провоспалительные цитокины (**интерлейкины**), участвующие в воспалительных аллергических и аутоиммунных реакциях
- **белок CD20** присутствующий на поверхности В-лимфоцитов (при В-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях)
- эпидермальный фактор роста (**EGFR**), повышенная экспрессия которого может наблюдаться при раковых заболеваниях
- рецептор 2 человеческого эпидермального фактора роста (**HER2**), гиперэкспрессия которого встречается при раке молочной железы

Лечебное применение МАТ

- терапия хронических заболеваний с длительным, прогрессирующим течением
- **иммуноterapia рака**
- **аутоиммунные заболевания**, (ревматоидный артрит, системная красная волчанка, псориаз, рассеянный склероз)
- **аллергология** (для лечения резистентных, тяжелых форм бронхиальной астмы)
- **трансплантология** (для профилактики отторжения трансплантата)
- **терапия вирусных, хронических воспалительных и орфанных заболеваний** (пароксизмальная ночная гемоглобинурия, криопирин-ассоциированные периодические синдромы).

Побочные эффекты МАТ

- Иммуногенность - инфузионные реакции, анафилаксия, снижение терапевтического действия лекарственного вещества
- возможно развитие каскада биологических реакций, сопровождающихся высвобождением цитокинов интерлейкина-6, ФНО α , интерферона (озноб, гриппоподобный синдром, миалгия и др.)
- повышенные риски возникновения онкологических, вирусных заболеваний, поскольку МАТ вызывают подавление активности отдельных звеньев иммунитета
- при длительной терапии препаратами МАТ (ингибиторами ФНО α) может наблюдаться реактивация латентного туберкулезного процесса, повышенный риск развития инфекций, лимфопролиферативных заболеваний, возникновение аутоиммунных реакций
- снижение выраженности клинического эффекта за счет нейтрализующего действия антител или формирования иммунных комплексов

Области применения моноклональных антител

Идентификация субпопуляций лимфоцитов человека методом иммунофенотипирования основана на обнаружении на их поверхности маркеров дифференциации (CD-антигенов), уникальных для каждой субпопуляции и стадии развития. Используя флюорохром-меченые моноклональные антитела, связывающиеся с определёнными CD антигенами, производят подсчёт лимфоцитов, относящихся к различным субпопуляциям для оценки клеточного звена иммунитета.

Диагностическое тестирование -моноклональные антитела используются в диагностике различных заболеваний для проверки наличия чужеродного антигена (токсинов, лекарств, гормонов, белков бактерий или вирусов).

Серологическая идентификация групп крови АВО

Моноклональные антитела также могут быть использованы для серологической идентификации групп крови. Антитела могут быть выделены из сывороток человека, стимулированных группой крови А или В

Области применения моноклональных антител

Радиоиммунодетекция (RID) –с помощью моноклональных антител в опухоль и ее метастазы можно доставить радиоактивные вещества, позволяющие обнаружить небольшие узелки опухоли по локализации в них радиоактивности.

Анализ эмбрионального развития –определение пола плода, хромосомных аномалий, аномалий единичного гена

Квадромы –клетки, образующиеся при слиянии двух гибридом, синтезируют бифункциональные антитела, имеющие активные центры к разным антигенам

Иммуноочистка – метод очистки отдельных интерферонов, белков и ферментов.

Применение моноклональных антител в онкологии

В терапии опухолей используют два типа МАТ:

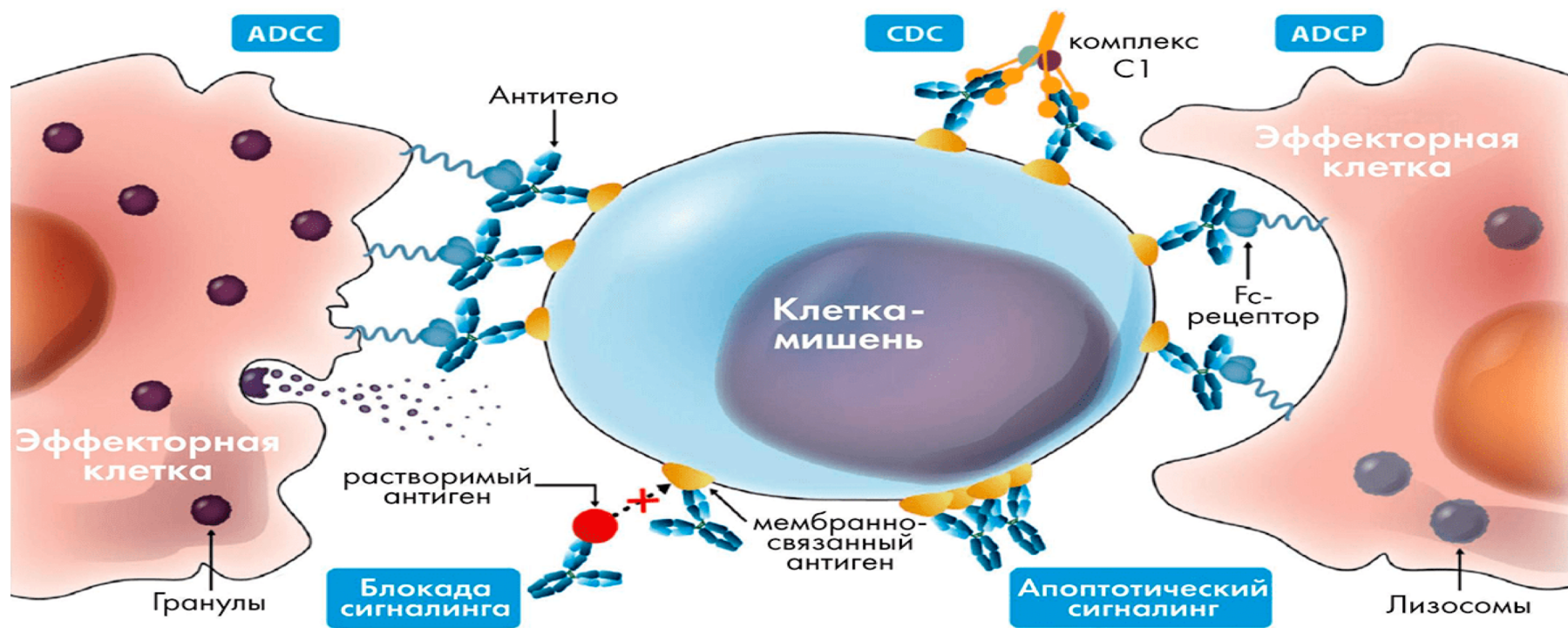
Простые (неконъюгированные) МАТ- воздействующие непосредственно на опухолеассоциированные антигены, запускают естественные механизмы иммунного ответа организма, разрушают опухолевые клетки за счет цитотоксического действия или блокируют пролиферацию и рост опухолевых клеток

Конъюгированные препараты МАТ - комплекс антител, специфичных к опухолеассоциированным АГ, лечебный эффект которых обусловлен связыванием с активными веществами (изотопом, цитостатиком или токсином), которые доставляются в опухолевые клетки.

Механизмы противоопухолевого действия терапевтических моноклональных антител

1. Иммунные механизмы

- индукция антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (АЗКЦ)
- индукция антитело-зависимого фагоцитоза (АЗФ)- **трастузумаб, алемтузумаб**
- индукция комплемент-зависимой цитотоксичности (антитело-опосредованной активации комплемента) (КЗЦ) - **ритуксимаб, офатумумаб**



Неиммунные механизмы противоопухолевого действия моноклональных антител

- **Изменение клеточных сигналов**

Некоторые злокачественные клетки имеют на своей поверхности большое количество рецепторов к **факторам роста (EGFR, VEGF-A, HER2)**, активирующим каскад реакций, направленный на усиление размножения клетки. Блокирование этих рецепторов с помощью моноклонального антитела ведет к гибели опухолевой клетки.

Цетуксимаб*, **нецитумаб** (против EGFR), (**трастузумаб***, **пертузумаб*** (против HER2), (**бевацизумаб*** (против VEGF-A))

- **Индукция апоптоза**

МАТ могут индуцировать апоптоз по внутреннему (митохондриальному) пути, приводя к высвобождению цитохрома С из митохондрий и подавляя антиапоптотические белки (**ритуксимаб***), либо увеличивать экспрессию проапоптотического многодоменного белка (**цетуксимаб***)

Классификация противоопухолевых моноклональных антител по механизму воздействия на клетки-мишени

I Моноклональные антитела, специфичные к антигенам, экспрессированным на опухолевых клетках (к белку CD20)

Ритуксимаб*, Обинутузумаб*, Офатумумаб*

II Моноклональные антитела, оказывающие влияние на ростовые факторы.

1. Препараты, блокирующие активность эпидермального фактора роста (ЭФР, EGFR2)

Цетуксимаб*, Панитумумаб*

2. Моноклональные антитела, специфичные к рецептору HER2.

Трастузумаб*, Пертузумаб*

3. Моноклональные антитела, блокирующие активность фактора роста эндотелия сосудов (VEGF).

Бевацизумаб*, Афлиберцепт*

Классификация противоопухолевых моноклональных антител по механизму воздействия на клетки-мишени

III Моноклональные антитела, воздействующие на лиганды, подавляющие активность Т-лимфоцитов (PD-1/PD-L1), или воздействующие на костимулирующие молекулы (CTLA-4)-чекпойнт-ингибиторы

1. Моноклональные антитела, специфичные к PD1 (белок запрограммированной клеточной гибели-1)

Ниволумаб*, Пембролизумаб*

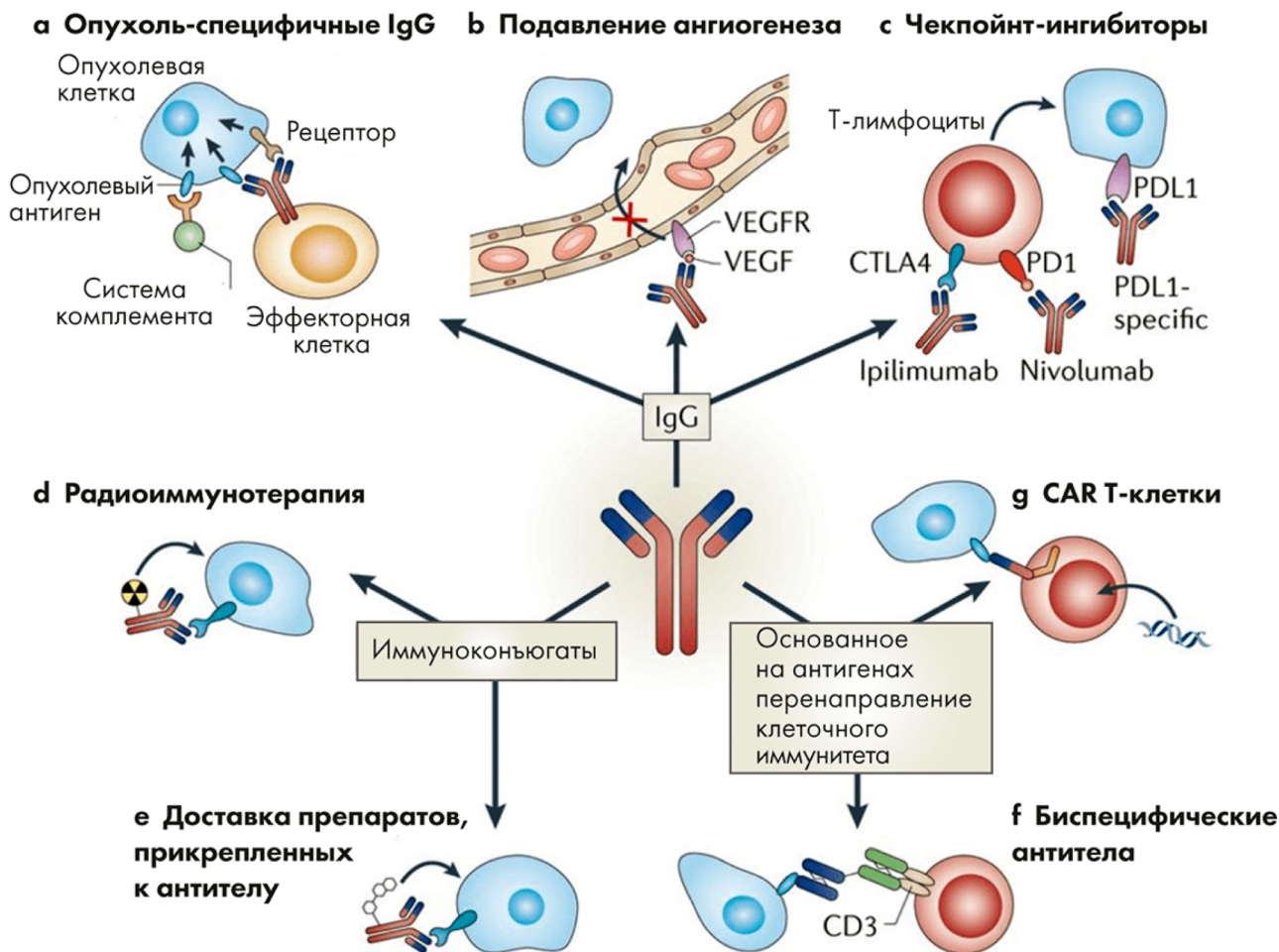
2. Моноклональные антитела, специфичные к PD-L1
(лиганды программируемой клеточной гибели PD-L1)

Атезолизумаб*, Авелумаб*, Дурвалумаб*

3. Моноклональные антитела, специфичные к CTLA-4
(цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный протеин 4)

Ипилимумаб*

Пути противоопухолевого воздействия моноклональных антител



Моноклональные антитела, специфичные к антигенам, экспрессированным на опухолевых клетках (к белку CD20)

Ритуксимаб (Мабтера) – химерные МАТ, обладающие специфичностью к рецептору CD20, который экспрессируется на поверхности пре- В-лимфоцитов и зрелых В-лимфоцитов. Антиген экспрессируется более чем у 90% В-клеточных неходжкинских лимфом.

Обинутузумаб – гуманизированные МАТ, избирательно взаимодействует с внеклеточным участком трансмембранного АГ CD20, расположенного на поверхности нормальных и злокачественных зрелых В-лимфоцитов и их предшественников.

Офатумумаб – человеческие МАТ, специфически связывающиеся с эпитопом, который включает внеклеточные петли молекулы CD20, вызывает связывание и активацию комплемента, что приводит к развитию КЗЦ и лизису опухолевой клетки. Офатумумаб вызывает лизис клеток, устойчивых к ритуксимабу.

Механизм антинеопластического действия:

- комплемент-зависимая цитотоксичность
- антителозависимая цитотоксичность

Применение лечение неходжкинской лимфомы, фолликулярной лимфом, хронического лимфолейкоза.

Моноклональные антитела, блокирующие активность эпидермального фактора роста РЭФР (EGFR Epidermal Growth Factor Receptor).

- **Цетуксимаб (Эрбитукс)** – химерные МАТ, специфичные к РЭФР
- блокирует связывание факторов роста с рецептором
- ингибирует пролиферацию опухолевых клеток
- вызывает индукцию апоптоза опухолевых клеток
- подавляет продукцию факторов, стимулирующих ангиогенез, клетками опухоли и миграцию эпителиальных клеток.

Применение – метастатический колоректальный рак, немелкоклеточный рак лёгких

- **Панитумумаб** – человеческие МАТ (IgG2), характеризующиеся высоким сродством и специфичностью к рецепторам ЭФР-человека
- ингибирует процесс аутофосфорилирования
- подавляет процессы клеточного роста
- индуцирует апоптоз
- снижает продукцию ИЛ-8 и фактора роста эндотелия сосудов.

Применяется в виде **монотерапии** при метастатическом колоректальном раке с экспрессией РЭФР после предшествующего курса химиотерапии.

Моноклональные антитела, специфичные к рецептору HER2.

Рецептор Her-2/ neu относят к семейству рецепторов ЭФР II типа, который присутствует в тканях и в норме, участвуя в регуляции деления и дифференцировке клеток. При опухолевом процессе уровень экспрессии существенно увеличивается (при раке молочной железы, при аденокарциноме желудка и раке лёгкого).

- **Трастузумаб (Герцептин)** – гуманизированные МАТ (IgG1), селективно взаимодействуют с рецептором HER-2, экспрессированным на опухолевых клетках, подавляет пролиферацию опухолевых клеток за счет комплемент-зависимой цитотоксичности (КЗЦ). **Применение** - рак молочной железы с опухолевой гиперэкспрессией HER2, распространённый рак желудка.

- **Пертузумаб** – гуманизированные МАТ, ингибируют передачу внутриклеточных сигналов по двум основным сигнальным путям – путь митогенактивированной протеинкиназы (МАР) и путь фосфоинозитид-3-киназы (PI3K), что ведет к подавлению пролиферации клеток опухоли и включению механизма апоптоза и АЗКЦ.

- **Применение** при метастатическом раке молочной железы в виде монотерапии. Препарат более эффективен при сочетанном применении с трастузумабом.

Моноклональные антитела, блокирующие активность фактора роста эндотелия сосудов.

Многие злокачественные опухоли выделяют факторы, обеспечивающие ангиогенез, например **фактор роста эндотелия сосудов (VEGF)**, который обладает митогенными, хемотаксическими свойствами, поэтому блокирование этого фактора способно подавлять рост опухоли

Бевацизумаб (Авастин) – гуманизированные МАТ (IgG1), специфичные к VEGF. Подавляет ангиогенез опухолевой ткани и метастазирование опухоли, усиливает противоопухолевый эффект ряда цитостатиков

Применение - при метастатическом колоректальном раке, РМЖ, раке лёгкого, почечно-клеточном раке, глиобластоме, эпителиальном раке яичника, раке шейки матки.

Моноклональные антитела, воздействующие на лиганды, подавляющие активность *T*-лимфоцитов (PD-1/PD-L1) или воздействующие на костимулирующие молекулы (CTLA-4) (ингибиторы иммунных контрольных точек)

Противоопухолевое действие препаратов МАТ – **чекпойнт-ингибиторов** (ингибиторов «контрольных точек») основано на блокаде сигнальных путей CTLA-4 и PD-1/PD-L1, контролирующих разные этапы иммунного ответа.

Ипилимумаб – человеческие МАТ, **специфичные к CTLA-4 АГ**, экспрессированному на **Т-Лф**, способствует пролиферации и созреванию противоопухолевых цитотоксических Т-Лф, активации эффекторных механизмов противоопухолевого иммунитета и гибели опухолевых клеток.

Применение: метастатическая меланома при неэффективности предшествующей терапии.

Ниволумаб – человеческие МАТ, направленные к рецептору PD-1, экспрессированному на Т-клетках, блокируют его взаимодействие с лигандом **PD-L1** и PD-L2, представленных на опухолевых клетках

- препятствует гибели Т-клеток организма
- активирует противоопухолевый иммунный ответ
- подавляет рост злокачественного новообразования

Применение – лечение меланомы при её метастазировании

Пембролизумаб – гуманизированное МАТ, **высокоселективный блокатор PD-1** рецепторов, экспрессированных на Т-клетках, предупреждает подавление противоопухолевого иммунитета, ограничивая пути ускользания опухолевых клеток от надзора иммунной системы

Применение – лечение поздних стадий меланомы, метастатического немелкоклеточного рака легкого, анапластической лимфомы

Конъюгированные МАТ

В зависимости от **активного вещества**, присоединенного к антителу, конъюгированные МАТ подразделяют на следующие группы:

- *с радиоактивными частицами (радиоиммунотерапия)*
ибритумомаб тиуксетан*, тозитумомаб*
- *с цитостатиками –конъюгации с антрациклинами, митомицином С*
- *с токсинами (или иммунотоксинами)* -**трастузумаб эмтанзин*, брентуксимаб*, гемтузумаб озогамицин*, инотузумаб озогамицин ***

За счёт МАТ препарат специфически связывается с опухолевыми клетками, экспрессирующими соответствующие АГ, оказывая на них двойное воздействие путём включения механизмов АЗКЦ и КЗЦ, а также действия радиоактивного изотопа или другого противоопухолевого компонента.

Конъюгаты антител с токсинами (или иммунотоксинами)

Конъюгаты антител с токсинами представляют собой МАТ, соединенные с цитотоксическими агентами. Основными цитотоксинами являются ингибиторы микротрубочек или химиотерапевтические агенты, повреждающие ДНК.

Трастузумаб эмтанзин* (Кадсила)— конъюгат гуманизированного МАТ (IgG1), специфичного к рецептору человеческого **HER2 (трастузумаб)**, и ингибитора полимеризации **тубулина DM1 (производное мейтанзина)**, оказывающим цитотоксический эффект.

Трастузумаб эмтанзин* обеспечивает **специфичность** взаимодействия с HER2 и доставку DM1 внутрь опухолевых клеток с гиперэкспрессией указанного рецептора.

DM1 вызывает блокаду клеточного цикла в фазе G2/M и апоптоз опухолевых клеток. При связывании препарата с рецептором подавляется передача внутриклеточного сигнала по пути фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3-K), что способствует активации АЗКЦ и КЗЦ, вызывающей гибель опухолевых клеток.

Применение- при метастатическом РМЖ.

Брентуксимаб* (Адцетрис) конъюгат МАТ к CD30 и противоопухолевого агента монометилэуристатина Е для лечения лимфом.

Конъюгаты антител с токсинами (или иммунотоксинами)

Иммунотоксины получают присоединением к МАТ бактериальных (дифтерийного токсина, экзотоксина синегнойной палочки) или растительных токсинов (рицина А или сапорины).

Гемтузумаб озогамицин* (*Милотарг*) - человеческие антитела к антигену CD33, который присутствует на большинстве лейкемических клеток, в комбинации с токсином калихеамицином, разрушающим ДНК. Применение - терапия **острого миелобластного лейкоза** у пожилых.

Инотузумаб озогамицин* (InO/CMC-544) представляет собой гуманизированный антителолекарственный конъюгат, направленный против CD22, связанный с калихеамицином. Соединение было одобрено FDA для использования при рецидивирующем или рефрактерном **остром лимфобластном лейкозе**

Конъюгаты моноклональных антител с радиоактивными частицами (радиоиммуноконъюгаты)

При разработке радиоиммуноконъюгированных препаратов используют МАТ с коротким периодом полужизни (мышинные). Более чувствительны к облучению гематологические опухоли (лимфомы, лейкозы) по сравнению с солидными опухолями.

- **Ибритумомаб тиуксетан* (Зевалин)** является конъюгатом АТ с радиоактивным изотопом, который состоит из рекомбинантного мышинного МАТ, специфичного к В-клеточному АГ CD20 и радиоактивного изотопа иттрия-90. Специфически связываясь с опухолевыми клетками, экспрессирующими CD20, меченые иттрий-90 МАТ оказывают на них двойное воздействие – путем включения механизмов АЗКЦ и КЗЦ, а также действия радиоактивного изотопа.

Применение: фолликулярная В-клеточной лимфома

- **Тозитумомаб* (Бексар)** — мышинные МАТ к антигену CD20, к которым прикреплен радиоактивный изотоп йода-131. Препарат получил одобрение FDA в 2003 г. для лечения рецидивов фолликулярных лимфом.

Конъюгаты моноклональных антител с противоопухолевыми средствами

В качестве **противоопухолевых средств** в конъюгированных препаратах МАТ могут быть использованы **антрациклины** (доксорубицин, даунорубицин, эпирубицин), **алкалоиды**, **митомицин-С**.

В настоящее время ни один лекарственный препарат МАТ, **конъюгированных с химиотерапевтическими препаратами, не зарегистрирован, продолжаются исследования по их разработке.**

Модифицированные МАТ

Биспецифические антитела связывают сразу две молекулярные мишени, что повышает узнаваемость злокачественных клеток.

- **Блинатумомаб*** – биспецифические АТ, состоящие из антигенсвязывающих доменов двух МАТ, один из которых специфичен к рецептору CD19, экспрессированному на опухолевых клетках, другой – к CD3, экспрессированному на Т-лимфоцитах.

Структура такого модифицированного МАТ позволяет **связывать и сближать лимфоидную опухолевую клетку и цитотоксический Т-Лф.**

Применение: В-клеточный острый лимфобластный лейкоз.

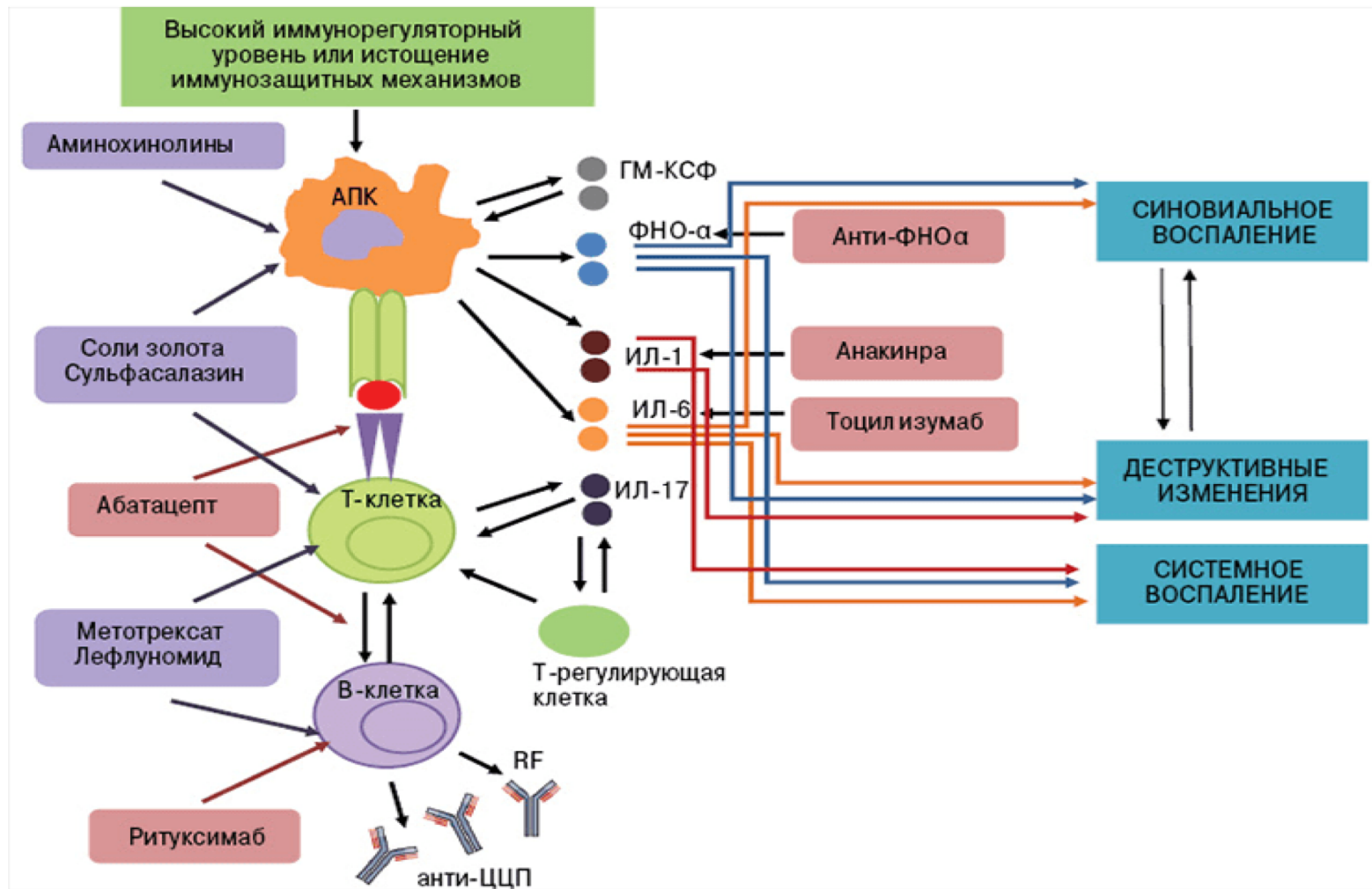
Моноклональные антитела в современной ревматологии

Основные мишени- цитокины и их рецепторы, мембранные молекулы лимфоцитов.

Классификация моноклональных антител в зависимости от точки приложения

- 1. Ингибиторы ФНО** (фактора некроза опухолей) — инфликсимаб*, этанерцепт*, цертолизумаб, голимумаб, адалимумаб*.
- 2. Блокаторы интерлейкиновых рецепторов** — тоцилизумаб* (ИЛ-6R), сарилумаб* (ИЛ-6), канакинумаб* (ИЛ-1R), секукинумаб* (ИЛ-17R).
- 3. Анти-В-клеточные антитела** (антитела к мембранным молекулам CD20) — ритуксимаб*, белимумаб* , окрелизумаб*
- 4. Анти-Т-клеточные антитела (ингибиторы слияния Т-клеток с АПК)** ((антитела к молекулам CD80 и CD86) — абатацепт*.

Патофизиологические мишени моноклональных антител — интерлейкины, ФНО, поверхностные белки лимфоцитов.

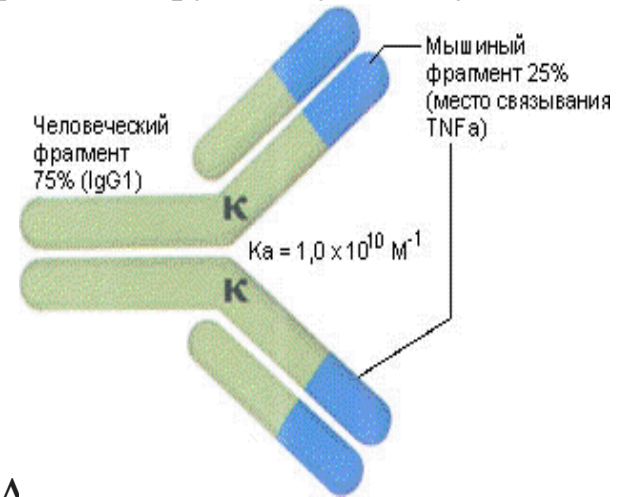


Ингибиторы ФНО

• **Ингибиторы фактора некроза опухолей** —связываются с ФНО-а, препятствуя его взаимодействию со специфическими рецепторами. ФНО эндогенным цитокин, который участвует в иммунном ответе, в развитии патологического воспаления и разрушения суставной ткани, характерных для ревматоидного артрита и других аутоиммунных заболеваний.

• **Инфликсимаб (Ремикейд)** - химерные МАТ

- с высокой специфичностью;
- связывает и нейтрализует трансмембранный и растворимый ФНО-α в жидких средах;
- вызывает лизис ФНО- продуцирующих клеток путем фиксации комплемента или за счет (АЗКЦ);
- подавляет биологическую активность ИЛ-6 при РА,
- угнетает пролиферацию активированных В-лимфоцитов и синтез иммуноглобулинов;



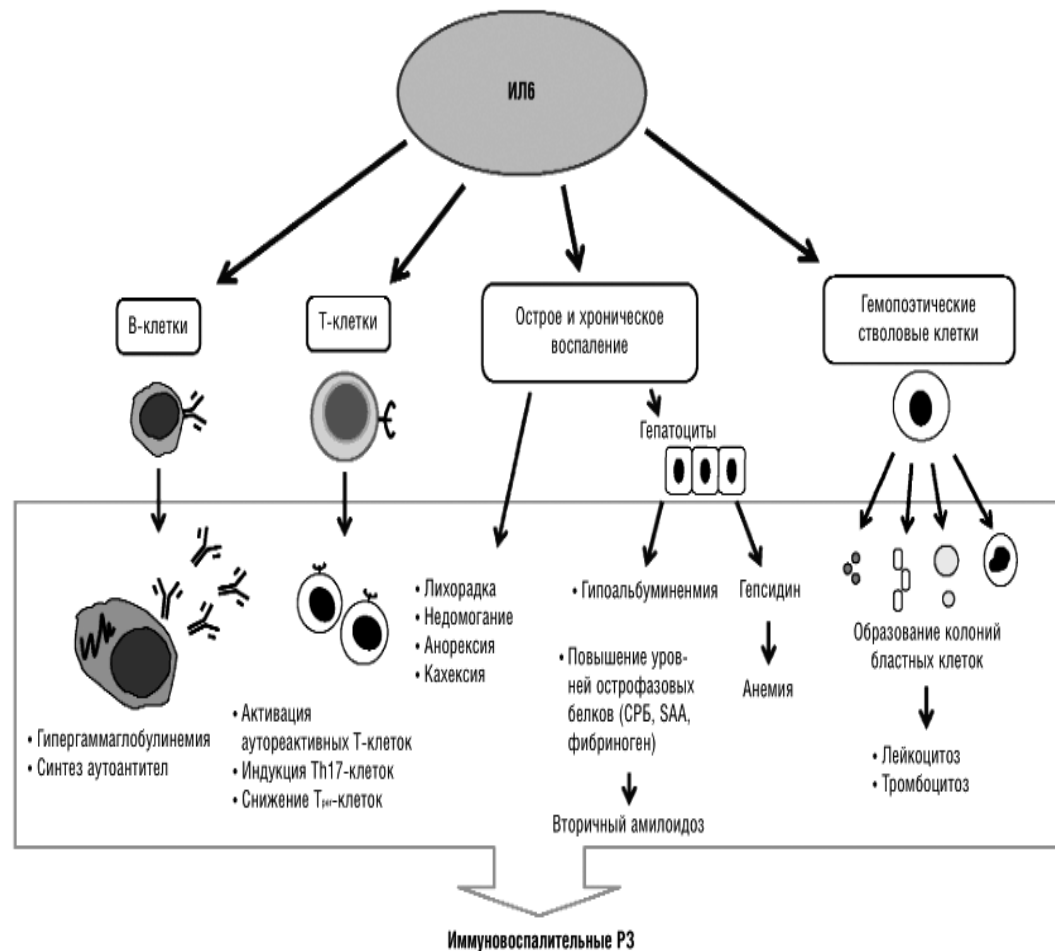
Этарнецепт (Энбрел) - рекомбинантный белковый препарат, который

получают соединением ФНО-рецепторов с Fc- фрагментом молекулы IgG1, блокирует избыток ФНО, связывая и инактивируя молекулы ФНО-α

Блокаторы интерлейкиновых рецепторов

В развитии аутоиммунного воспаления важную роль играют **интерлейкины**-провоспалительные цитокины, контролирующие процессы дифференцировки, пролиферации и гибели иммунных клеток.

ИЛ-6 - многофункциональный цитокин, участвует в паракринной регуляции, стимулирует секрецию Ig, активирует Т-клетки, стимулирует выработку белков острой фазы в печени, гемопоэз. ИЛ-6 вовлечен в патогенез различных аутоиммунных, воспалительных заболеваний, остеопороза и новообразований.

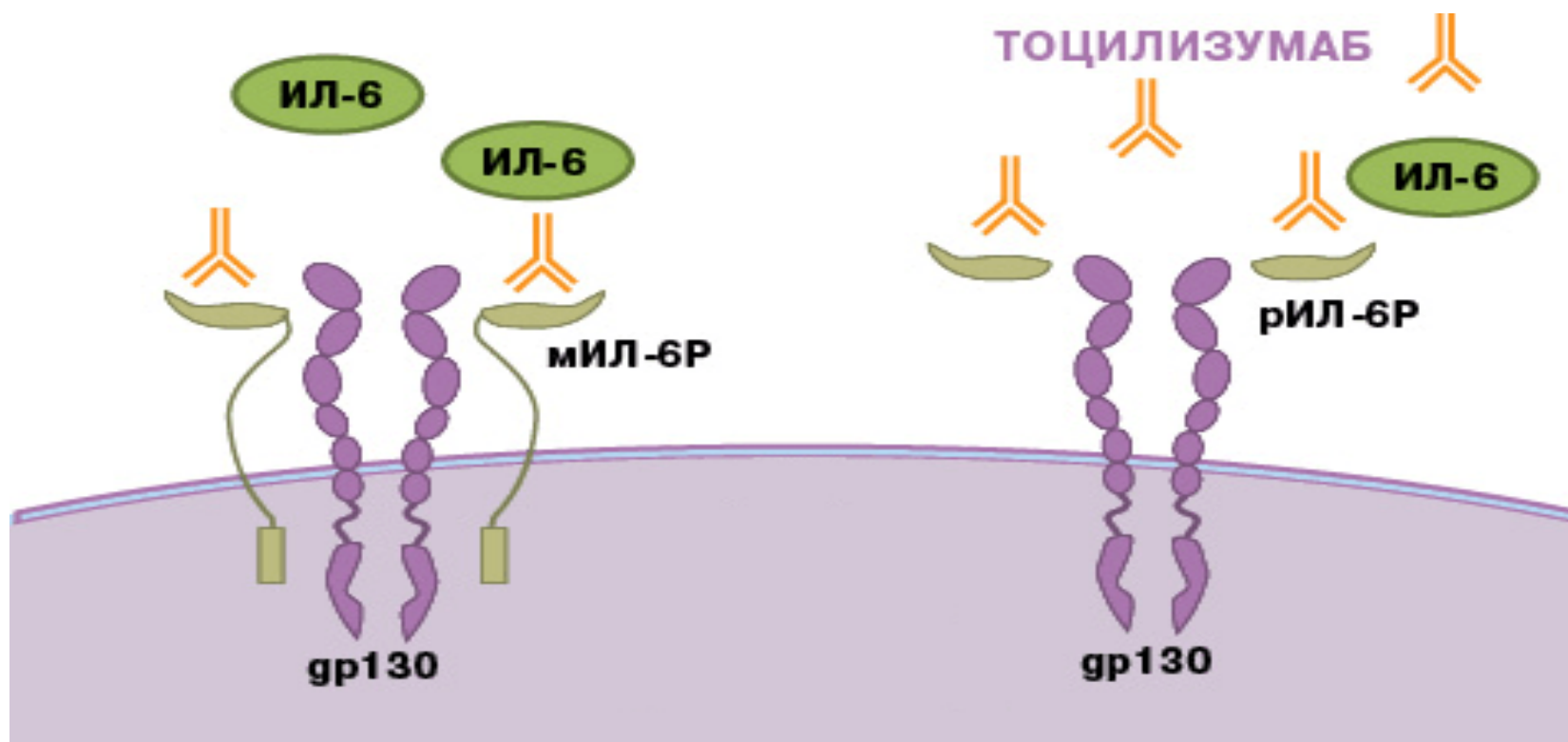


Механизм действия интерлейкинов при аутоиммунном воспалении (на примере ИЛ-6).

Блокаторы интерлейкиновых рецепторов.

Тоцилизумаб - рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело к человеческому рецептору интерлейкина-6 (ИЛ-6) из подкласса иммуноглобулинов IgG₁.

Механизм действия - селективно связывает растворимые и мембранные рецепторы ИЛ-6, ингибируя оба сигнальных пути ИЛ6-зависимой клеточной активации



Блокаторы интерлейкиновых рецепторов

- **Анакинра (Кинерет)**–рекомбинантный растворимый конкурентный ингибитор рецепторов ИЛ-1, подавляющий функциональную активность ИЛ-1.
- **Сарилумаб, левилимаб**- рекомбинантные человеческие моноклональные антитела против рецептора интерлейкина-6 (IL-6R), специфически связывается как с растворимыми, так и с мембранными рецепторами ИЛ-6
- **Силтуксимаб** – химерное моноклональное антитело, которое связывается с интерлейкином-6 (IL-6), препятствует опосредованному IL-6 росту В-лимфоцитов и плазматических клеток, секреции фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и аутоиммунным процессам
- **Применение**- ревматоидный артрит и другие аутоиммунные заболевания (псориатический артрит, анкилозирующий спондилит, ювенильный идиопатический артрит)

Анти-В-клеточная терапия

В–клетки, синтезирующие ревматоидные факторы, обладают способностью взаимодействовать с иммунными комплексами и «презентировать» широкий спектр аутоантигенов, а активированные В–клетки экспрессируют ко–стимуляторные молекулы. **CD20** – В- клеточный поверхностный антиген (фосфопротеин), который экспрессируется только пре -В- и зрелыми В- клетками. При «выключении» активности **CD20** антигена не нарушается ни образование новых лимфоцитов, ни выработка нормальных антител

Ритуксимаб - химерные анти CD20 моноклональные антитела

Окрелизумаб (ОКР, Ocrelizumab) – гуманизированные антитела к CD20 В-клеток, селективно связывают и удаляют CD20+В клетки. **Механизм действия ритуксимаба, окрелизумаба**

1.Антителозависимая клеточная цитотоксичность, в которой участвуют естественные киллеры, присоединяясь с помощью своих Fc-рецепторов к антителу на поверхности **CD20+ В-клетки**, что индуцирует лизис **CD20+ В-клеток**

2. Комплемент-зависимая клеточная цитотоксичность

активация системы комплемента и образование мембраноатакующего комплекса в вызывает лизис CD20+ В-клеток

3. Стимуляция апоптоза CD20+ В-клеток.

Окрелизумаб индуцирует АЗКЦ более выражено, чем КЗЦ клеток-мишеней, за счет этого вызывает менее выраженные нежелательные эффекты (инфузионные реакции), чем ритуксимаб

Анти-Т-клеточная терапия

У пациентов с ревматоидным артритом (РА) Т-лимфоциты обнаруживаются в синовиальной жидкости. Для полной активации Т-лимфоцитов требуется **2 сигнала** от антиген-презентирующих клеток: **первый** — для распознавания специфического антигена рецепторами Т-клеток ; **второй** — (неспецифический) костимулирующий сигнал предполагает связывание молекул CD80 и CD86 на поверхности антиген-презентирующих клеток с рецептором CD28 на поверхности Т-лимфоцитов. Сочетание этих взаимодействий вызывает активацию Т-клеток, которые стимулируют выработку провоспалительных цитокинов.

Абатацепт — гибридный растворимый белок, состоящий из внеклеточного домена антигена-4-цитотоксических Т-лимфоцитов (CTLA-4), связанного с модифицированным Fc-фрагментом IgG₁ человека.

- селективно модулирует ключевой ко-стимулирующий сигнал, необходимый для полной активации Т-лимфоцитов,
- связывает белки CD80 и CD86 на поверхности антигенпрезентирующих клеток
- уменьшает зависимое от Т-лимфоцитов образование антител и воспаление

Моноклональные антитела и SARS-CoV-2

Классификация препаратов для лечения и профилактики COVID-19 на основе МАТ по механизму действия

1. Препараты для лечения и профилактики COVID-19 на основе МАТ, специфичных к SARS-CoV-2 (вируснейтрализующие МАТ)

однокомпонентные — сотровимаб, регданвимаб, бамланивимаб

комбинированные — бамланивимаб + этесевимаб; казирививимаб + имдевивимаб, тиксагевимаб и цилгавимаб

2. Препараты для лечения COVID-19 на основе МАТ, не специфичных к вирусу SARS-CoV-2.

Блокаторы рецепторов ИЛ-6

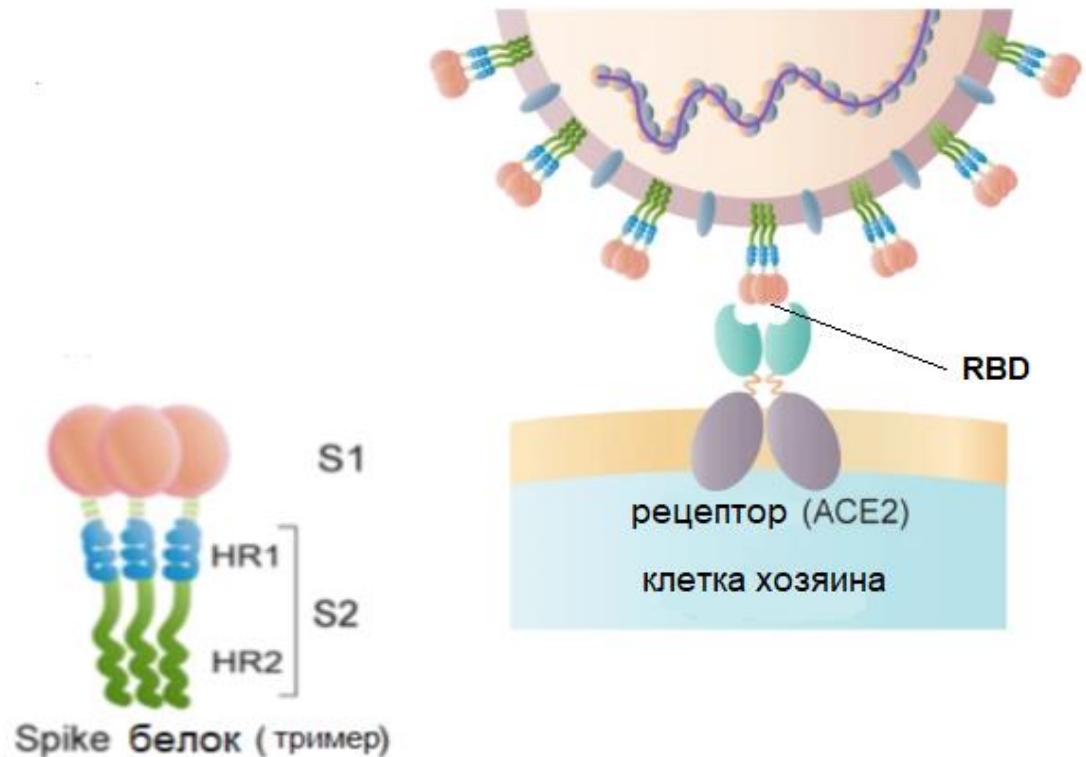
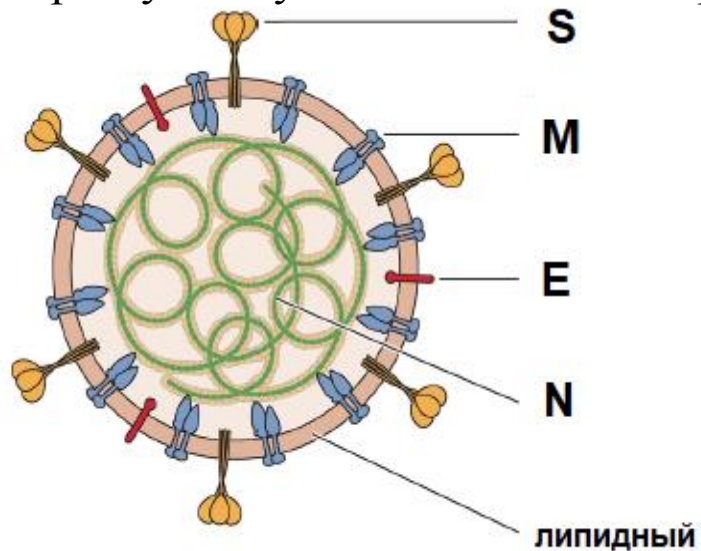
Тоцилизумаб* (атлизумаб, актемра), сарилумаб*, силтуксимаб, левилимаб* (ильсира), олокизумаб* (артлегия)

Моноклональные антитела против CD6

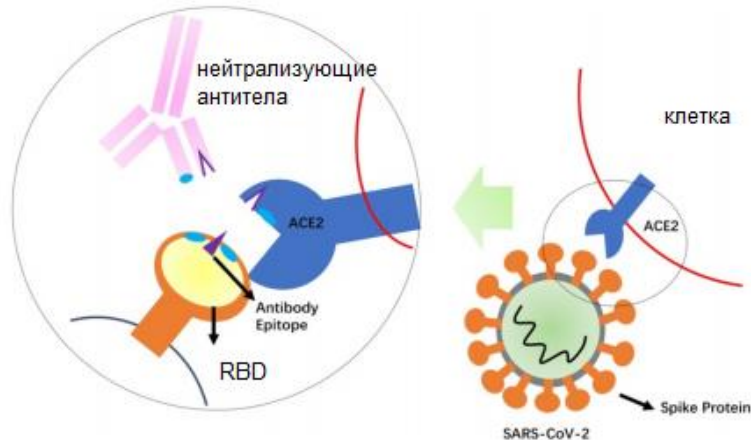
Итолизумаб (Алзумаб)

Механизм действия нейтрализующих МАТ для лечения и профилактики COVID-19

Мишенью для всех МАТ, нейтрализующих SARS-CoV-2, является **гликопротеин шипа (S-белок)** вируса, который придает SARS-CoV-2 вид «вируса с короной» и обеспечивает проникновение вируса в клетку человека. Представляет собой трансмембранный гомотример, имеет 2 функциональные субъединицы, которые опосредуют прикрепление вируса к клетке-хозяину. Субъединица S1 образована 4 доменами, наиболее важными из них являются N-концевой домен (NTD) и домен, связывающий рецептор. Связывание S-белка МАТ нейтрализуют проникновение SARS-CoV-2 в клетку, блокируя эпитопы, которые участвуют в связывании вируса с рецептором ACE2.



Механизм действия нейтрализующих МАТ для лечения и профилактики COVID-19



- связываются с неперекрывающимися эпитопами рецептор-связывающего домена (RBD) S-белка SARS-CoV-2
- блокируют взаимодействие S-белка SARS-CoV-2 с ангиотензин-превращающим ферментом 2 (ACE2)
- нейтрализуют проникновение SARS-CoV-2 в клетку
- останавливают репликацию вируса.

Механизм действия блокаторов рецепторов ИЛ-6 для лечения COVID-19

- Иммунный ответ при тяжелом течении COVID-19 может спровоцировать внезапный выброс в кровоток большого количества провоспалительных цитокинов (включая ИЛ-6), что сопровождается развитием синдрома «цитокинового шторма». Повышенные концентрации ИЛ-6 в крови пациентов коррелируют с тяжелыми исходами при COVID-19.
- **Блокаторы рецепторов ИЛ-6** -Тоцилизумаб (атлизумаб, актемра), сарилумаб, силтуксимаб, левилимаб (ильсира), олокизумаб (артлегия)
- -связывают и блокируют как растворимые, так и мембранные рецепторы ИЛ-6 предотвращают развитие ИЛ-6-ассоциированного провоспалительного каскада
- -препятствует активации антиген-презентирующих клеток - В- и Т-лимфоцитов, моноцитов и макрофагов, эндотелиальных клеток, фибробластов, избыточной продукции других провоспалительных цитокинов
- **FDA** одобрило их для предотвращения осложнений, связанных с цитокиновым штормом, вызванным COVID-19.

Механизм действия моноклональных антител против CD6 для лечения COVID-19

Моноклональные антитела против **CD6** также работают для предотвращения цитокинового шторма, воздействуют на специфические молекулы, находящиеся на поверхности клетки, которые участвуют в регуляции иммунного ответа.

Итолизумаб (Алзумаб)— гуманизированное моноклональное антитело IgG1 -избирательно связывается на CD6, участвующий в костимуляции, адгезии и созревании Т-клеток

- снижает регуляцию активации Т-клеток
- вызывает снижение синтеза провоспалительных цитокинов
- уменьшает инфильтрацию Т-клеток в местах воспаления

В Индии одобрено применение итолизумаба для предотвращения развития «цитокинового шторма» у пациентов с острым респираторным дистресс-синдромом средней и тяжёлой степени тяжести на фоне COVID-19.

Классификация препаратов на основе МАТ для профилактики и лечения COVID-19 по клиническому применению

1. Препараты для доконтактной профилактики заражения COVID-19

комбинация МАТ тиксагевимаб и цилгавимаб* (Evushheld)

1. Препараты МАТ для постконтактной профилактики и лечения COVID-19

комбинации МАТ казирививимаб + имдевимаб (REGN-COV2

комбинации МАТ бамланививимаб + этесевимаб

комбинация МАТ тиксагевимаб и цилгавимаб* (Evushheld)

1. Препараты МАТ, для лечения COVID-19

сотровимаб, бектеловимаб

комбинации бамланививимаб + этесевимаб, казирививимаб + имдевимаб

комбинация МАТ

- **Препараты МАТ для доконтактной профилактики COVID-19**

- **Тиксагевимаб и цилгавимаб** -препараты на основе МАТ с Fc-фрагментом, модифицированным методом мутаций. Модификация Fc-фрагмента позволяет удлинить период полувыведения препарата при внутримышечном введении. Препарат предполагает защиту от заражения на срок до 6–12 мес.
- **Применение** - предназначен лицам, которые еще не инфицированы SARS-CoV-2 и не имели недавнего контакта с инфицированным SARS-CoV-2) в качестве альтернативы вакцинам для лиц, которые имеют противопоказания для вакцинации, рекомендован лицам, которые находятся на лечении иммунодепрессантами
- **Препараты для постконтактной профилактики и лечения COVID-19**
- **Казирививимаб и имдевимаб** - нейтрализующие человеческие МАТ, специфичные к SARS-CoV-2.
- **Применение** - лечение COVID-19 легкой и средней степени тяжести, которые подвержены высокому риску прогрессирования заболевания
- -для постконтактной профилактики COVID-19 у пациентов, контактировавших с SARS-CoV-2, которые подвержены высокому риску прогрессирования тяжелой формы COVID-19 (лица, которые не могут быть вакцинированы, иммунодефицитные

Препараты МАТ для лечения COVID-19

- **Бамланивимаб, регданвимаб, сотровимаб**
- **Комбинация бамланивимаба с этесевимабом-** МАТ, нейтрализующие S-белок, которые были разработаны на основе исходных специфических иммуноглобулинов, продуцируемых В-лимфоцитами, полученными от двух отдельных пациентов, переболевших COVID-19. Комбинирование этих 2 нейтрализующих МАТ при клиническом применении может способствовать снижению вирусной нагрузки и уменьшению вероятности образования резистентных вариантов, появляющихся при лечении
- **Сотровимаб** -МАТ с модификацией Fc-фрагмента. Сотровимаб имеет замену 2 аминокислот в домене Fc-фрагмента. Данная модификация выполнена для увеличения периода полувыведения при сохранении эффекторной функции
- **Регданвимаб** — рекомбинантное человеческое моноклональное антитело, иммуноглобулин G1, ингибитор интернализации вирусов, таргетирован на спайковый белок SARS-CoV-2
- **Показания-** для лечения легкой и средней степени тяжести заболевания у пациентов с положительным результатом теста на COVID-19 с высоким риском прогрессирования тяжелой формы