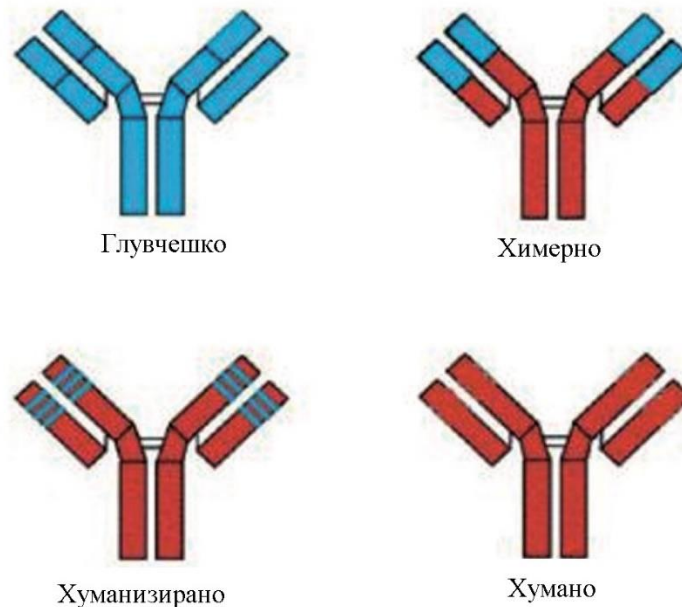


# МОНОКЛОНАЛНИ АНТИТЕЛА КАКО АНТИ-КАНЦЕР ТЕРАПИЈА

Моноклоналните антитела можат да се користат како слободни – неконјугирани, или конјугирани со различни лекови, токсини или радиоизотопи со цел за подобрување на специфичноста и фармаколошкиот одговор и намалување на несаканите ефекти. До денес од страна на FDA (Агенцијата за храна и лекови) се регистрирани единаесет моноклонални антитела кои се користат како анти-канцер терапија. Во зависност од процентуалната застапеност на хуманиот или животинскиот фрагмент анти-канцер антителата можат да се групираат во три категории (Слика 1):



Слика 1. Моноклонални антитела

## 1. Химерни IgG1 моноклонални антитела. Имињата на овие лекови завршуваат со суфиксот *-ximab*.

**Rituximab** е првото регистрирано антитело, уште во 1997 година. Претставува анти-CD20 (антиген кој се наоѓа на површината на В-клетките) и делува преку директна индукција на апоптозата и индиректно преку антитело зависна клеточна цитотоксичност (ADCC), комплемент зависна цитотоксичност (CDC). Ова антитело се добива преку генетски инженеринг и е составено од гликолизиран

имуноглобулински константен регион од хумано IgG1 антители (ги обезбедува ефекторните функции – ADCC и CDC) и варијабилен регион од глувчешко анти-CD20 антители 2B8 (специфичност спрема CD20 антигенот). Ритуксимабот се состои од два тешки ланци од 451 аминокиселини и два лесни ланци од 213 аминокиселини со молекулска маса од 145 kDa. Ова антители се користи во третман на не-Хочкинов лимфом и хронична лимфоцитна леукемија, но подоцна од страна на FDA е одобрен за третман на автоимуни заболувања. Најефикасен е во третман на ревматоиден артрит и во комбинација со метотрексатот се користи како стандардна терапија. Исто така се користи и кај пациенти кај кој е започната реакција на одбивање на трансплантиран бубрег. Кај овие состојби е утврдена зголемена густина на CD20 антигенот и ритуксимабот ја инхибира В-клеточната пролиферација и предизвикува клеточна апоптоза.

**Cetuximab** е помладо химерно антители, регистрирано во 2004 година. Се добива од анти-EGFR глувчешкото антители 225 и хумано IgG1 антители. Скоро има ист афинитет спрема (рецептор за епидермалниот фактор за раст) EGFR како и основното глувчешко 225 антители. Делува против клетките со прекумерна експресија на EGFR преку ADCC и се користи во третман на колоректален канцер, неситнокелточен рак на белите дробови и активен е кај рак на глава и врат во комбинација со конвенционалната радиотерапија.

## 2. Хуманизирани IgG1 антители. Имињата на овие лекови завршуваат со суфиксот *-zumab*.

**Trastuzumab** е првото хуманизирано антители, регистрирано во 1998 година за третман на рак на дојка. Составено е од 1328 аминокиселини со молекулска маса од 148-kDa. Потекнува од глувчешкото антители 4D5 кое инхибира пролиферација на клеточните линии кои имаат прекумерна експресија на HER2/neu рецепторите, а немаат ефект спрема клетките кои немаат експресија на овој рецептор. Ова глувчешко антители претставува потентен инхибитор на растот на туморските хумани клетки од дојка и затоа е избрано за понатамошен клинички развој. Со цел за намалување на (human anti-mouse antibodies) НАМА одговорот 4D5 антители е хуманизирано. *Картер и соработниците, (1992)* успеале да го субклонираат хиперваријабилниот регион од 4D5 во плазмиди кои кодираат создавање на константни ланци од хумано IgG1 антители и генерирање на вектор кој кодира создавање на химерно антители кое е понатаму хуманизирано. Добиеното хуманизирано антители има поголем афинитет спрема HER2/neu отколку 4D5 и одобрено е за терапија на рак на дојка. Делува преку ADCC, врзувајќи се за четвртиот субдомен на екстраклеточниот домен на HER2/neu рецепторот. Fc регионот содржи јаглекхидратни остатоци кои реагираат со останатите делови од имунолошкиот

систем – ефекторни клетки. Откако антителото се врзува за четвртиот субдомен од рецепторот, Fc фрагментот се врзува за ефекторните клетки (макрофаги, природни клетки убијци, моноцити), врши нивна регрутација и убивање на туморските клетки преку фагоцитоза, апоптоза и сл. Се уште се во фаза клиничките испитувања за употреба на ова антитело кај рак на панкреас, оваријален канцер и неситноклеточен рак на белите дробови кои имаат прекумерна експресија на HER2/neu рецепторот.

**Alemtuzumab** е второто хуманизирано IgG1 моноклонално антитело регистрирано во 2001 година. Претставува анти-CD52 антитело кое се користи во терапија на хронична лимфоцитна леукемија и Т-клеточни лимфоми. Делува преку директна индукција на апоптоза и индиректно преку ADCC и CDC. Освен во терапија на леукемија се користи и во терапија на мултипна склероза и како имуносупресив при трансплантација на коскена срцевина и бубрег.

**Bevacizumab** е хуманизирано моноклонално анитело кое се добива од глувчешкото анти-VEGF антитело A.4.6.1 и хумано IgG1. Развојот на васкуларното снабдување со крв е значаен фактор за раст и метастазирање на туморот. VEGF е значаен фактор за раст кој го регулира процесот на ангиогенеза и во случај на метастазирање доаѓа до прекумерна експресија на овој рецептор. Бевацизумаб е анти-VEGF антитело кое го контролира процесот на ангиогенеза и од страна на FDA е одобрен во 2004 како терапија од избор кај метастазиран колоректален канцер. Истата година, од страна на FDA, е одобрен како терапија од избор кај напреден и метастазиран неситноклеточен рак на белите дробови во комбинација со карбоплатин и палитаксел. Понатамошните студии покажале дека бевацизумабот е активен, сам или во комбинација со други супстанции, спрема различни метастазирани тумори. Поради тоа во 2009 е регистриран за третман на тумор на мозокот и во комбинација со интерферон кај напреден канцер на бубрегот. Во 2011, во комбинација со палитакселот, е регистриран како терапија од избор кај метастазиран рак на дојка. Студиите покажале дека бевацизумабот делува инхибиторно на васкуларната пермеабилност, индуцира апоптоза на туморските клетки и го продолжува животот на пациентите.

**Atezolizumab** е најмладото хуманизирано IgG1 антитело, одобрено во 2016 година за третман кај пациенти со метстазиран неситноклеточен рак на белите дробови и метастазиран уротелиален карцином, чија болест прогресирала после употреба на терапија со цисплатин. Делува преку врзување со протеинот PD-L1, експресиран на туморските клетки и ја блокира интеракцијата со PD-1 рецепторите. Со инхибиција на PD-L1, атезолизумабот може да овозможи активирање на Т-клетките, кои ги препознаваат и убиваат туморските клетки.

### 3. Хумани антитела. Имињата на овие антитела завршуваат со суфиксот –*umab*.

**Panitumumab** е првото хумано моноклонално антитело, регистрирано во 2006 година. Претставува хумано IgG2 антитело кое е генерирано од КсеноГлувци. Најпрво се прави имунизација на КсеноГлувците со канцерогени хумани клеточни линии A431, кои имаат експресирано над милион EGFR рецептори на површината на клетките. Со процесот на имунизација, кај глувците бил створен хуман имунолошки одговор, со воведување на скоро целосен хуман имуноглобулински локус во герминативните глувчешки делови. Овие глувци понатаму се користеле за генерирање на бројни високо афинитетни, потполно хумани антитела кои не содржат глувчешки протеини и кои се добро прифатени без да создаваат НАМА одговор. Панитумумабот има висок афинитет спрема EGFR рецепторите и за разлика од IgG1 антителата каде ADCC се смета за главен механизам на делување, IgG2 антителата делуваат преку неутрофил-посредувана реакција. Fc фрагментот на IgG2 се врзува за FcγRIIa рецепторот, кој се наоѓа на површината на миелоидните клетки – моноцити/макрофаги. Ова антитело е активно кај КРАС мутираниот метастазиран колоректален канцер. Претставува мал G-протеин кој е кодиран од страна на КРАС генот. Мутацијата на овој ген е причина за создавање на различни видови на канцери. Панитумумабот покажал значително продолжување на животот на пациентите кога се дава во комбинација со FOLFOX4, отколку конвенционалната терапија.

**Ofatumumab** е второ хумано антитело регистрирано во 2009 година. Претставува хумано анти-CD20 IgG1 антитело со молекулска маса од 149 kDa. Како и останатите IgG1 антитела делува преку CDC и ADCC, но не предизвикува директна апоптоза. Поиздразен е ефектот на CDC кај туморските клетки, отколку ADCC и активно е кај различни видови на леукемии (не-Хочкинов лимфом и хронична лимфоцитна леукемија и В-клеточен лимфом) и автоимуни заболувања (мултипла склероза и ревматоиден артритис). Како втора генерација на анти-CD20 покажува поголема ефикасност отколку ритуксимабот. Има послаба имуногеност, појак CDC ефект и е активен кај клеточните линии кои се резистентни на ритуксимабот.

**Ipilimumab** е хумано IgG1 моноклонално антитело кое се добива со користење на трансгени глувци (HuMab) од кои се исфрлени ендогените имуноглобулински гени и заменети со хуманите локуси. Претставува анти CLTA-4 (цитотоксичен Т-лимфоцитен антиген-4) антитело, регистрирано во 2011 година за терапија на метастатски меланом. Туморските клетки можат лесно да бидат препознаени и убиени од Т-лимфоцитите. Меѓутоа овој механизам може да биде прекинат од страна на инхибиторните точки, како што е CLTA-4. Ипилимумабот делува така што се врзува за CLTA-4, го блокира овој инхибиторен механизам и се овозможува убивањето на туморските клетки со помош на Т-лимфоцитите. Клиничките студии покажале дека ова антитело само или во комбинација со радиотерапија е активно кај

рак на простата и во комбинација со палитаксел и карбопластин кај неситноклеточен и ситноклеточен рак на белите дробови.

**Nivolumab** е хумано IgG4 моноклонално антители одобрено во 2014 година за терапија на метастазиран меланом. Се добива од страна на трансгените глувци кои содржат хуман имуноглобулински миногокус за тешките ланци и имуноглобулински локуси за хуманите лесни ланци. Делува на тој начин што го блокира PD-1 (протеин кој се наоѓа на површината на Т клетките) и овозможува Т-клетките да ја задржат активноста спрема туморските клетки. Во отсуство на ниволумаб туморските клетки се врзуваат за PD-1 протеинот и ги инактивираат Т-клетките. Клиничките студии покажале дека ниволумабот е ефикасен и кај неситноклеточен рак на белите дробови и во 2015 година е одобрен како препарат за терапија на овој вид на тумор.

**Olaratumab** е најново хумано IgG1 моноклонално антители, регистрирано во 2016 година за терапија на пациенти со саркома на меки ткива. Делува на тој начин што ја блокира алфа субединицата на рецепторот за тромбоцит факторот за раст (PDGF-R). Клиничките студии покажале дека е најефикасен кога се дава заедно со конвенционалната хемотерапија со доксорубицин и значително ја подобрува состојбата на пациентите кај кои е невозможна операција или радиотерапија.

Како заклучок може да се каже дека користењето на моноклоналните антители во терапија на различни видови канцери е еден од најголемите успеси во последната деценија. Овој успех се заснова на долгогодишните научни истражувања чија главна цел била разбирање на комплексноста на структурата на антителата, целните места, односно рецепротите за кои се врзуваат истите и имунолошкото регулирање на растот на туморот. Афинитетот на антителата може да биде прилагоден така да се намали неговото врзување за нормалните ткива и подобрување на пенетрацијата и задржувањето во туморските клетки. Големината, структурата и специфичноста на антителата може да биде модифицирана со цел за подобрување на селективноста спрема туморските ткива. Подобрувањето на технологијата на конјугација овозможува развој на имуноконјугати и значителна селективна испорака на цитотоксичните агенси до туморските клетки. Овие имуноконјугати претставуваат следна генерација на препарати за третман на различни видови тумори. Развојот на радиофармацијата овозможува развој на радиоимуноконјугати кои се значително поефикасни отколку неконјугираните антители.

Неконјугирано антитело	Тип на антитело	Антиген	Механизам на дејство	Индикации	Година на регистрација
Rituximab	Химерно IgG1	CD20	ADCC, CDC, директна индукција со апоптоза	не-Хочкинов лимфом, хронична лимфоцитна леукемија, ревматоиден артритис	1997
Trastuzumab	Хуманизирано IgG1	HER2/neu (ErbB2)	Инхибиција на HER2 рецепторот преку ADCC	Рак на дојка, панкреас, оваријален канцер и канцер на бели дробови	1998
Alemtuzumab	Хуманизирано IgG1	CD52	ADCC, CDC, директна индукција со апоптоза	Хронична лимфоцитна леукемија ревматоиден артритис и трансплантација	2001
Cetuximab	Химерно IgG1	EGFR (ErbB1)	Инхибиција на EGFR рецепторот преку ADCC	Колоректален канцер, рак на белите дробови, рак на главата и вратот	2004
Bevacizumab	Хуманизирано IgG1	VEGF	Инхибиција на VEGF рецепторот	Метастазиран колоректален рак, Рак на белите дробови, бубрегот, мозокото и дојките	2004
Panitumumab	Хумано IgG2	EGFR (ErbB1)	Инхибиција на EGFR рецепторот	Колоректален канцер	2006
Ofatumumab	Хумано IgG1	CD20	ADCC, CDC	не-Хочкинов лимфом, хронична лимфоцитна леукемија, ревматоиден артритис	2009

<b>Ipilimumab</b>	Хумано IgG1	CTLA-4	Инхибиција на CTLA-4 рецепторот преку ADCC	Меланом, рак на простата и белите дробови	2011
<b>Nivolumab</b>	Хумано IgG4	PD-1	Инхибиција на PD-1 рецепторот	Меланом, рак на белите дробови	2014
<b>Atezolizumab</b>	Хуманизирано IgG1	PD-L1	Инхибиција на PD-L1	Уротелијален карцином, метастазиран неситноклеточен канцер на белите дробови	2016
<b>Olaratumab</b>	Хумано IgG1	PDGF-R	Инхибиција на алфа субединицата на PDGF-R	Саркома на меки ткива	2016

Подготвиле:

м-р фарм. Марија Штерјова  
проф. д-р Емилија Јаневик-Ивановска  
Факултет за медицински науки,  
Универзитет “Гоце Делчев” - Штип

## Литература:

- Amado R.G., Wolf M., Peeters M., Cutsem E.V., Siena S., Freeman D.J., Juan T., Sikorski R., Suggs S., Radinsky R., Patterson S.D. and Chang D.D.; Wild-type *KRAS* is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 26(10):1626-1634; 2008.
- Barth M.J., Hernandez-Iliyaliturri F.J., Mavis C., Tsai P.C., Gibbs J.F., Deeb G. and Czuczman M.S.; Ofatumumab demonstrates activity against rituximab-sensitive and -resistant cell lines, lymphoma xenografts and primary tumour cells from patients with B-cell lymphoma. *British Journal of Haematology*. 156:490-498; 2011.
- Brahmer J.R., Drake C.G., Wollner I., Powderly J.D., Picus J., Sharfman W.H., Stankevich E., Pons A., Salay T.M., McMiller T.L., Gilson M.M., Wang C., Selby M., Taube J.M., Anders R., Chen L., Korman A.J., Pardoll D.M., Lowy I. and Topalian S.L.; Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *Journal of Clinical Oncology*. 28:3167–3175; 2010.
- Bruggemann M., Williams G.T., Bindon C.I., Clark M.R., Walker M.R., Jefferis R., Waldmann H. and Neuberger M.S.; Comparison of the effector function of human immunoglobulins using a matched set of chimeric antibodies. *The Journal of Experimental Medicine*. 166:1351-1361; 1987.
- Carteni G., Fiorentino R., Vecchione L., Chiurazzi B. and Battista C.; Panitumumab a novel drug in cancer treatment. *Annals of Oncology*. 18:16-21; 2007.
- Carter P., Presta L., Gorman C.M., Ridgway J.B.B., Henner D., Wong W.L.T., Rowland A.M., Kotts C., Carver M.E. and Shepard M.; Humanization of an anti-p185<sup>HER2</sup> antibody for human cancer therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.* 89:4285-4289; 1992.
- Cohen M.H., Gootenberg J., Keegan P. and Pazdur R.; FDA drug approval summary: bevacizumab (avastin) plus carboplatin and paclitaxel as first-line treatment of advanced/metastatic recurrent nonsquamous non-small cell lung cancer. *The Oncologist*. 12:713-718; 2007a.
- Cohen M.H., Gootenberg J., Keegan P. and Pazdur R.; FDA drug approval summary: bevacizumab plus FOLFOX4 as second-line treatment of colorectal cancer. *The Oncologist*. 12:356-361; 2007b.
- Cohen M.H., Shen L.S., Keegan P. and Pazdur R.; FDA drug approval summary: bevacizumab (avastin) as treatment of recurrent glioblastoma multiforme. *The Oncologist*. 14:1131-1138; 2009.
- Cunningham D., Humblet Y., Siena S., Khayat D., Bleiberg H., Santoro A., Bets D., Mueser M., Harstrick A., Verslype C., Chau I. and Cutsem E.V.; Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *The New England Journal of Medicine*. 351:337-345; 2004.



- Gennari R., Menard S., Fagnoni F., Ponchio L., Scelsi M., Tagliabue E., Castiglioni F., Villani L., Magalotti C., Gibelli N., Oliviero B., Ballardini B., Da Prada G., Zambelli A. and Costa A.; Pilot study of the mechanism of action of preoperative trastuzumab in patients with primary operable breast tumors overexpressing HER2. *Clinical Cancer Research*. 10:3650-3655; 2004.
- Gottenberg J.E., Guillevin L., Lambotte O., Combe B., Allanore Y., Cantagrel A., Larroche C., Soubrier M., Bouillet L., Dougados M., Fain O., Farge D., Kyndt X., Lortholary O., Masson C., Moura B., Remy P., Thomas T., Wendling D., Anaya J.M., Sibilia J. and Mariette X.; Tolerance and short term efficacy of rituximab in 43 patients with systemic autoimmune diseases. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 64:913-920; 2005.
- Gribben J.G. and Hallek M.; Redefining alemtuzumab: current and emerging therapeutic roles. 144:818-831; 2009.
- Hanaway M.J., Woodle E.S., Mulgaonkar S., Peddi V.R., Kaufman D.B., First M.R., Croy R. and Holman J.; Alemtuzumab induction in renal transplantation. *The New England Journal of Medicine*. 364:1909-1919; 2011.
- Presta L.G., Chen H., O'Connor S.J., Chisholm V., Meng Y.G., Krummen L., Winkler M. and Ferrara N.; Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders. *Cancer Research*. 57:4593-4599; 1997.
- Raedler L.A.; Opdivo (nivolumab): second PD-1 inhibitor receives FDA approval for unresectable or metastatic melanoma. *American Health and Drug Benefits*. 8:180-183; 2015.
- Reagan J.L. and Castillo J.J.; Ofatumumab for newly diagnosed and relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. *Expert Review of Anticancer Therapy*. 11(2):151-160; 2011.
- Reff M.E., Carner K., Chambers K.S., Chinn P.C., Leonard J.E., Raab R., Newman R.A., Hanna N. and Anderson D.R.; Depletion of B cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood*. 83(2):435-445; 1994.
- Romano E., Kusio-Kobialka M., Foukasc P.G., Baumgaertner P., Meyer C., Ballabenie P., Michielina O., Weidert B., Romero P. and Speiser D.E.; Ipilimumab-dependent cell-mediated cytotoxicity of regulatory T cells ex vivo by nonclassical monocytes in melanoma patients. *PNAS*. 112(19):6140-6145; 2015.
- Scott A.M., Wolchok J.D. and Old L.J.; Antibody therapy of cancer. *Cancer*. 12:278-288; 2012.
- Slovin S.F., Higano C.S., Hamid O., Tejwani S., Harzstark A., Alumkal J.J., Scher H.I., Chin K., Gagnier P., McHenry M.B. and Beer T.M.; Ipilimumab alone or in combination with radiotherapy in metastatic castration-resistant prostate cancer: results from an open-label, multicenter phase I/II study. *Annals of Oncology*. 24:1813-1821; 2013.
- Teeling J.L., French R.R., Cragg M.S., Brakel J., Pluyter M, Huang H., Chan C., Parren P.W.H.I., Hack C.E., Dechant M., Valerius T., Winkel J.G.J. and Glennie

M.J.; Characterization of new human CD20 monoclonal antibodies with potent cytolytic activity against non-Hodgkin lymphomas. *Immunobiology*. 104(6):1793-1800; 2004.

- Valabrega G., Montemurro F. and Aglietta M.; Trastuzumab: mechanism of action, resistance and future perspectives in HER2-overexpressing breast cancer. *Annals of Oncology*. 10:1-8; 2007.
- Wang C., Thudium K.B., Han M., Wang X.T., Huang H., Feingersh D., Garcia C., Wu Y., Kuhne M., Srinivasan M., Singh S., Wong S., Garner N., Leblanc H., Bunch R.T., Blanset D., Selby M.J. and Korman A.J.; In vitro characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab, BMS-936558, and in vivo toxicology in non-human primates. *Cancer Immunology Research*. 2:846-856; 2014.
- Weiner G.J.; Rituximab: mechanism of action. *Seminars in Hematology*. 47(2):115-123; 2010.
- Wolchok J.D., Hodi F.S., Weber J.S., Allison J.P., Urban W.J., Robert C., O'Day S.J., Hoos A., Humphrey R., Berman D.M., Lonberg N. and Korman A.J.; Development of ipilimumab: a novel immunotherapeutic approach for the treatment of advanced melanoma. *Annals of The New York Academy of Sciences*. 1291:1-13; 2013.
- Zent C.S., Secreto C.R., LaPlant B.R., Bone N.D., Call T.G., Shanafelt T.D., Jelinek D.F., Tschumper R.C. and Kay N.E.; Direct and complement dependent cytotoxicity in CLL cells from patients with high risk early stage chronic lymphocytic leukemia (CLL) treated with alemtuzumab and rituximab. *Leukemia Research*. 32(12):1849-1856; 2008.