



Ellenanyag alapú biológiai  
therapiák 1.

Felhasználási területek,  
poliklonális antitestek, IVIg

Gyógyszerészeti Biotechnológia

2010.11. 10.

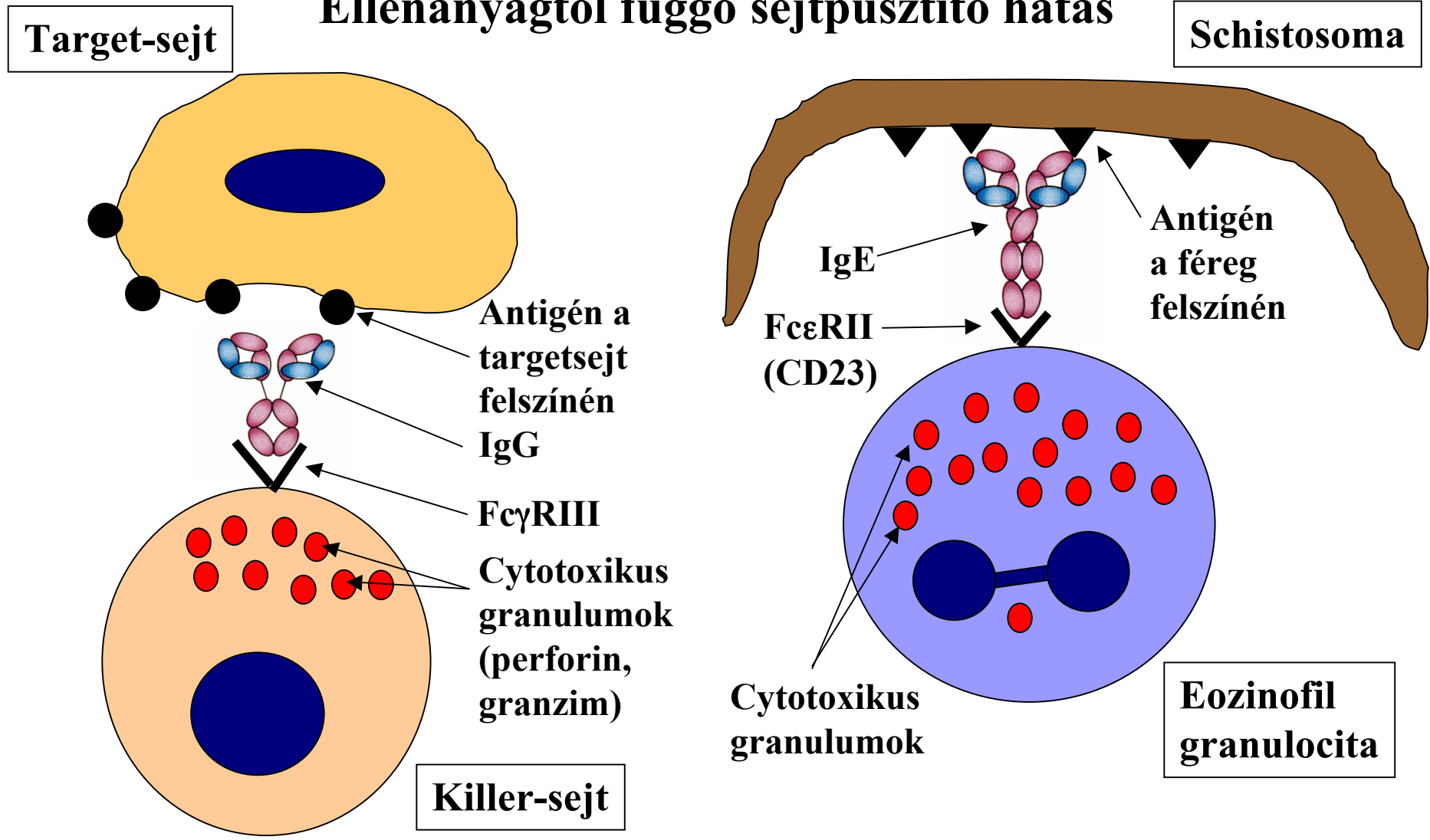
# Humán antitestek tulajdonságai

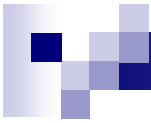
	IgG <sub>1</sub>	IgG <sub>2</sub>	IgG <sub>3</sub>	IgG <sub>4</sub>	IgM	IgA <sub>1</sub>	IgA <sub>2</sub>	IgD	IgE
Molekulasúly (KDa)	146	146	165	146	970	160	160	184	188
Felnőtt szérumszint (mg/ml)	9	3	1	0,5	1,5	3	0,5	0,03	10 <sup>-5</sup>
Szérum féléletidő (napok)	21	20	7	21	10	6	6	3	2
Complement aktiváció (kalsszikus út)	++	+	+++	+	+++	-	-	-	-
Placenta transzfer	+++	+	++	+/-	-	-	-	-	-
Mucosa transzfer	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+++	+++	-	-
Phagocitákhoz kötődés	+++	++	+++	-	-	++	++	-	+
Hízósejtekhez és bazofilekhez kötődés	-	-	-	-	-	(+)	(+)	-	+++

# ADCC

## Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity

### Ellenanyagtól függő sejtpusztító hatás

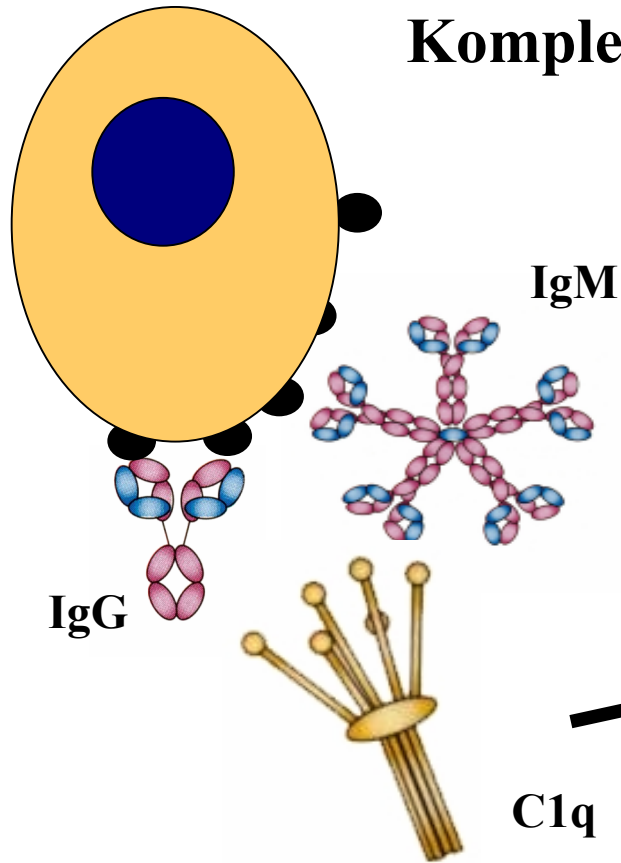




# CDC

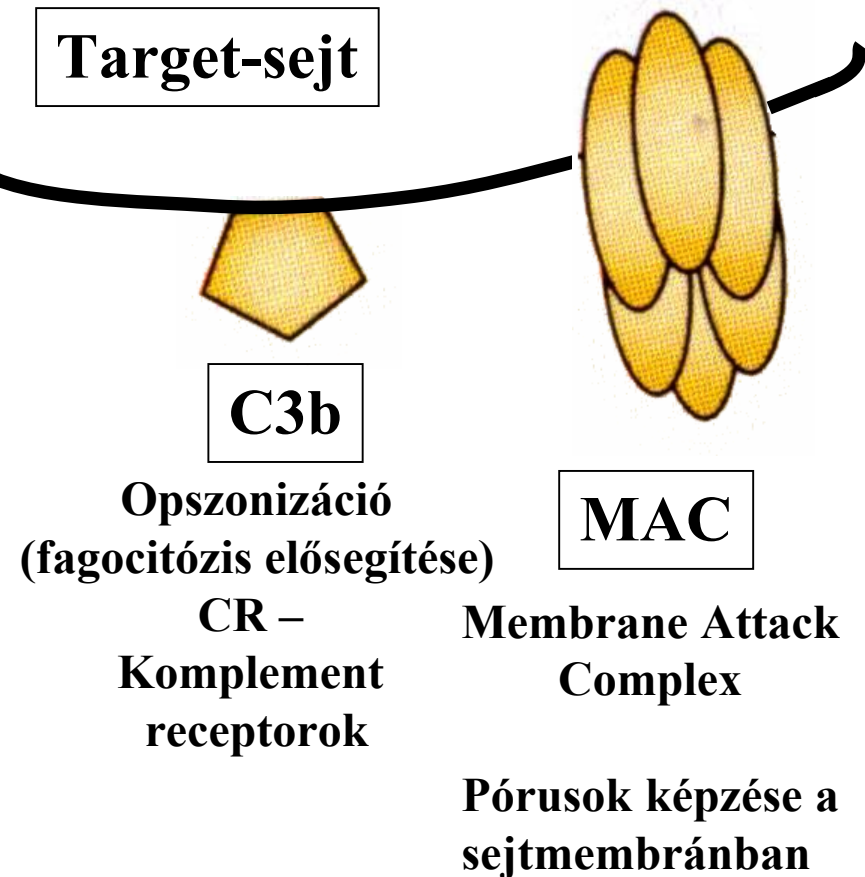
Complement-Dependent Cytotoxicity  
Komplementtől függő sejtpusztító hatás

Target-sejt



Immunkomplexben lévő IgG-hez vagy IgM-hez kötődve a C1q autolízisen esik át és beindítja a komplement kaskádót (Klasszikus aktivációs út)

Target-sejt





# Biológiai terápiák

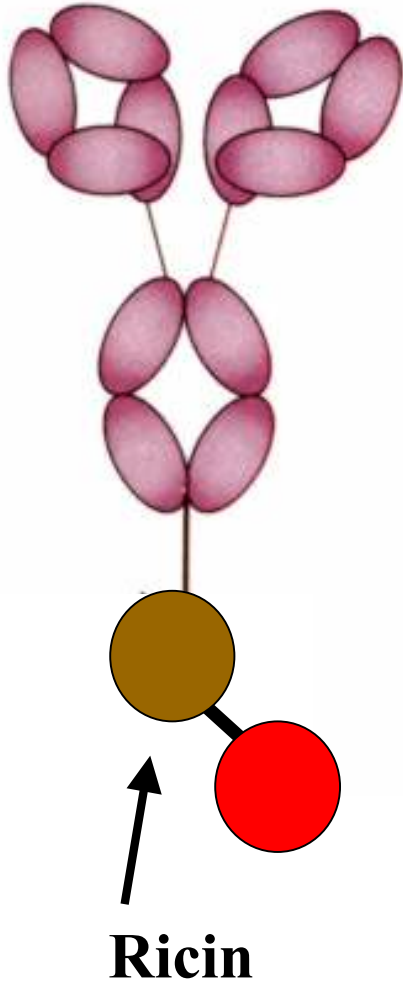
- Olyan kezelés amely a szervezet védekező mechanizmusai megfelelő működésének helyreállítását vagy fokozását célozza
  - Antivirális
  - Daganatellenes
  - Autoimmun betegségek kezelése
  - Immunhiányos állapotok



# **„Alternatív” immunglobulin effektor funkciók**

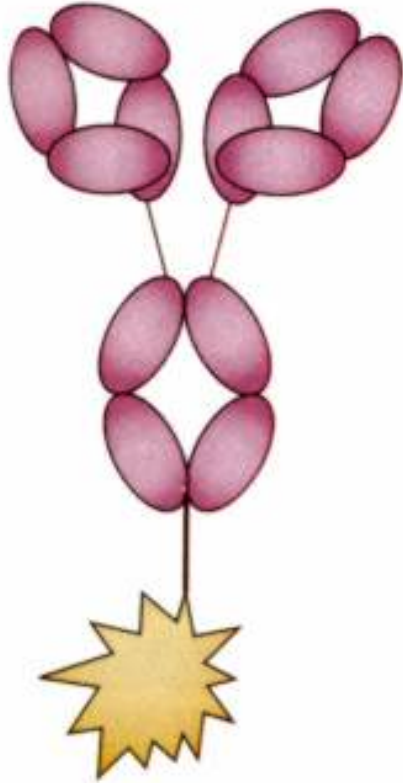
- 1. Toxinok**
- 2. Radioizotópok**
- 3. Citokinek**
- 4. Bispecifikus antitestek**

# Toxinok



A célsejt felületéhez kötődő Ig-hoz toxint (pl. ricint) konjugálhatunk, amely célsejt által internalizált Ig-al együtt a sejt citoplazmájába jut. Itt leválik az Ig-ról és kifejti toxikus hatását (pl. megállítja a sejt fehérjeszintézisét).

# Radioizotópok



- **$\gamma$  sugárzó, alacsony dózisban**

Diagnosztikum – radioaktív imaging

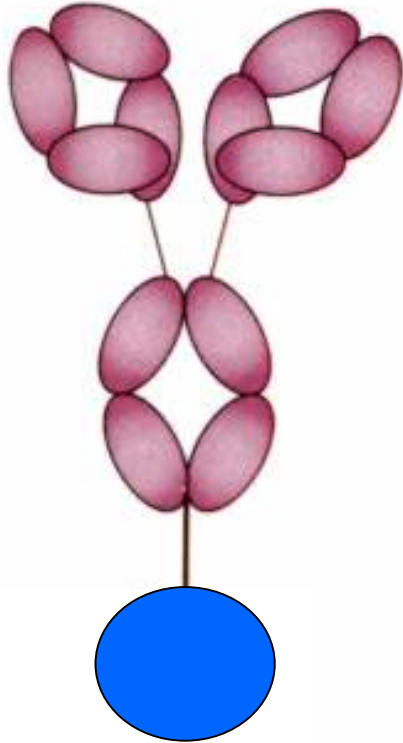
Tumorok és mikrometasztázisok felkutatása, amelyeket más módszerrel nem lehet kimutatni

- **$\alpha$ ,  $\beta$  sugárzó magas dózisban**

Terapeutikum – tumorok kezelése



# Citokinek



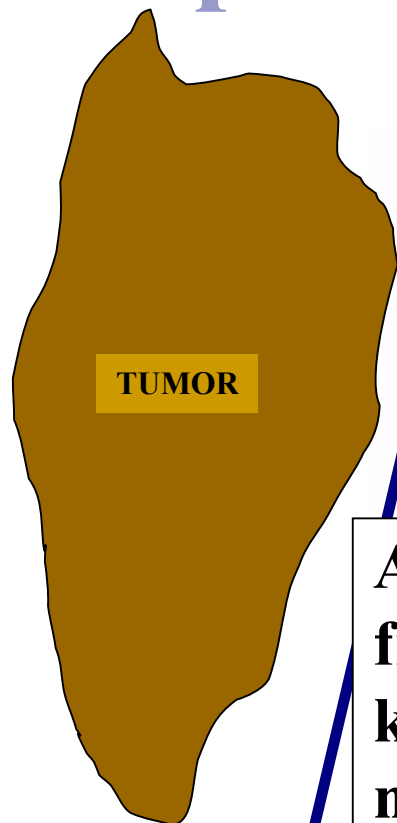
- **TNF $\alpha$**
- **IL-2**

A citokinek az immunrendszer modulálói.

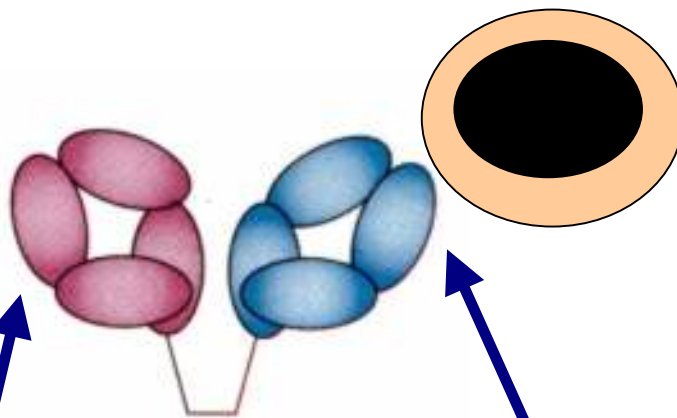
Tumorellenes antitestekhez kapcsolásukkal a tumorok lokális környezetében elméletileg megnövelhető a citokinek koncentrációja.

A citokin mintázat megváltozása triggereli az antitumor immunválaszt.

# Bispecifikus antitestek



Tumor specifikus  
sejtfelszíni molekula ellen



**Effektor sejt**

- NK sejtek
- Tc sejtek
- Makrofágok

**A bispecifikus antitesteket két különböző Ig Fab fragmentumának proteolízisével majd a két különböző fragmentum kémiai keresztkötésével nyerik.**

**Antigénként jól használható effektor sejt molekulák:**

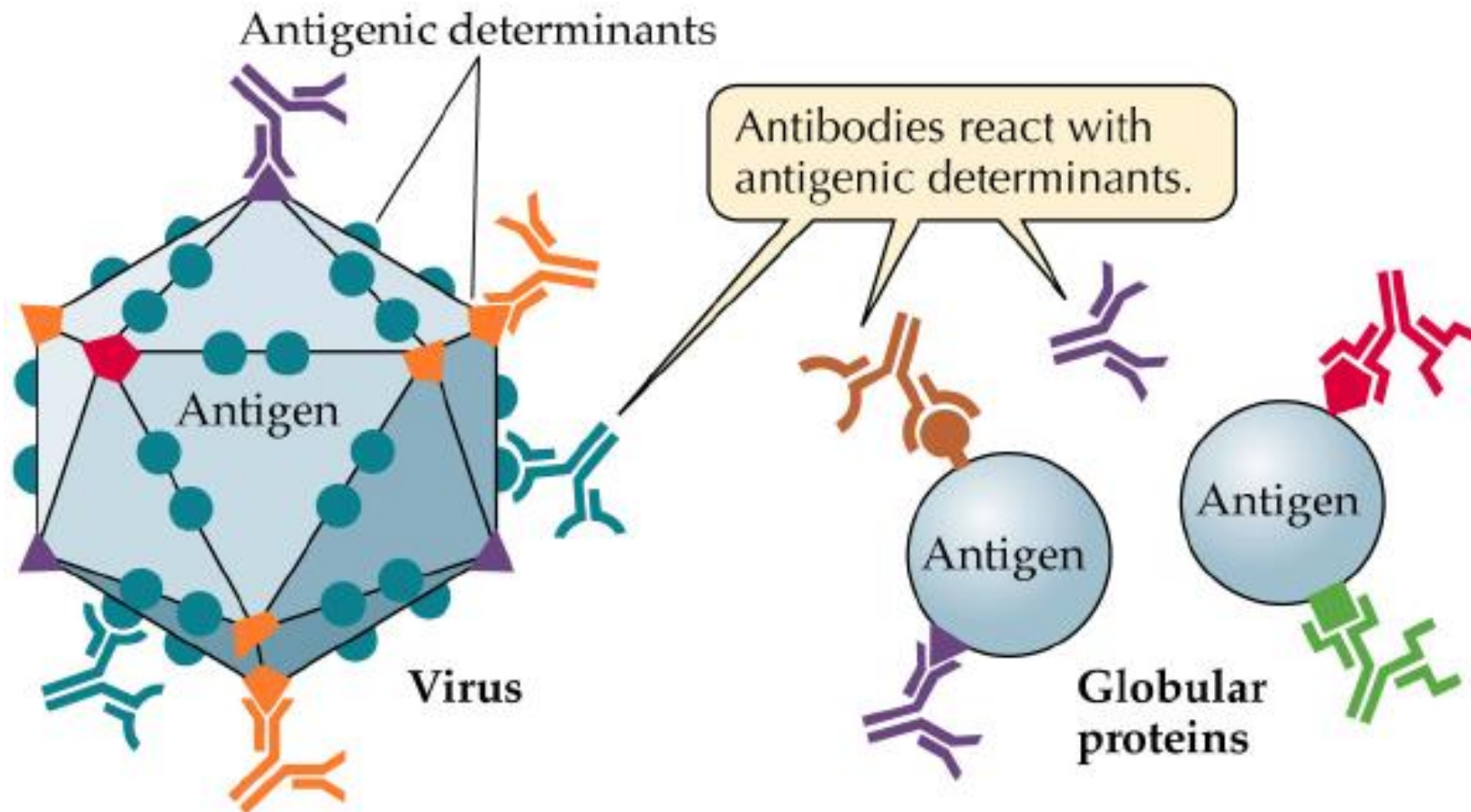
- CD3                      TCR jelátvivő molekulája; T sejtek
- CD64 (FcγR1) nagy affinitású FcγR; Mφ
- CD89                      FcαR; Mφ , granulociták



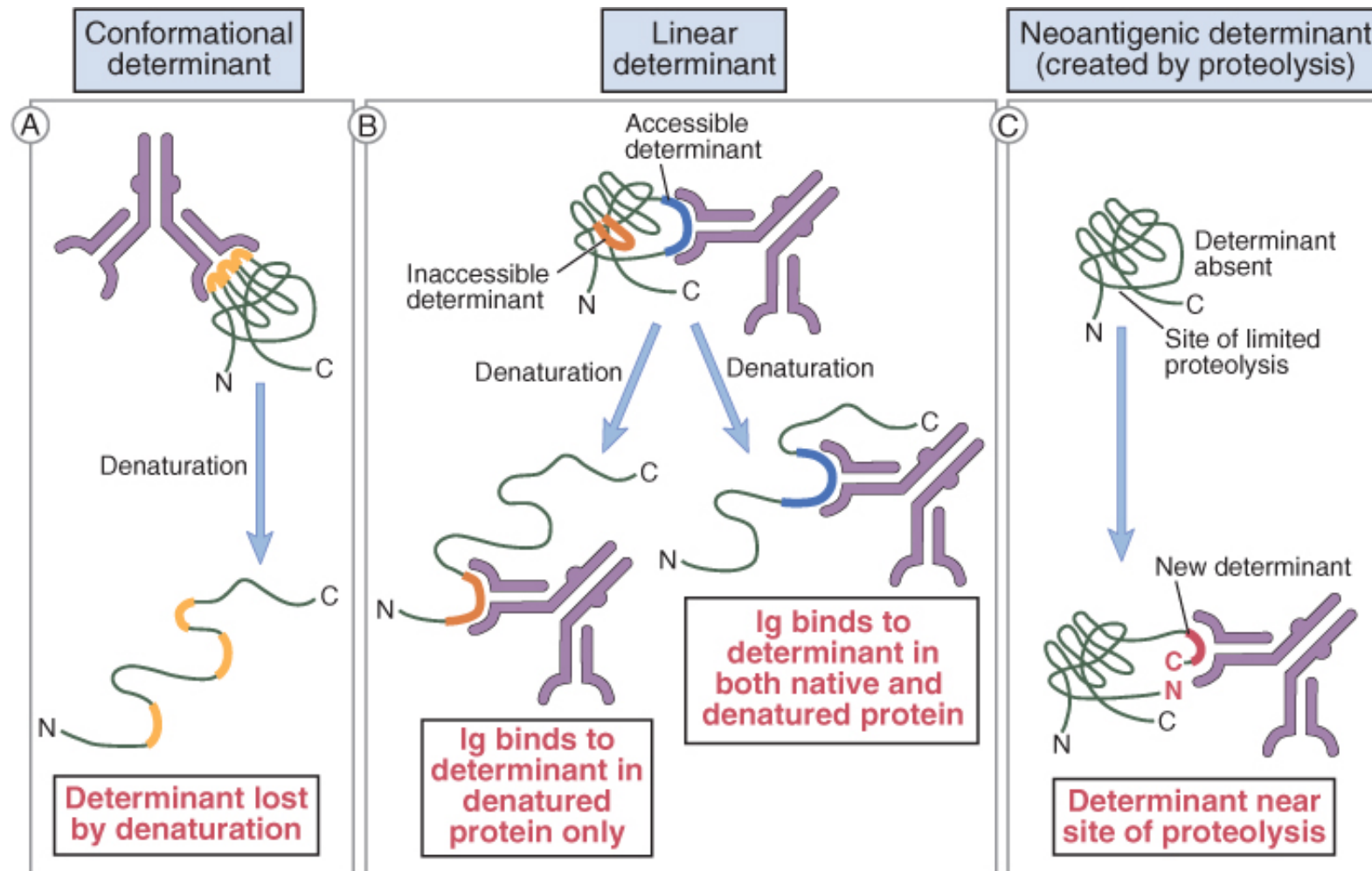
# Ellenanyag alapú therapiák

- Poliklonális
- Monoklonális

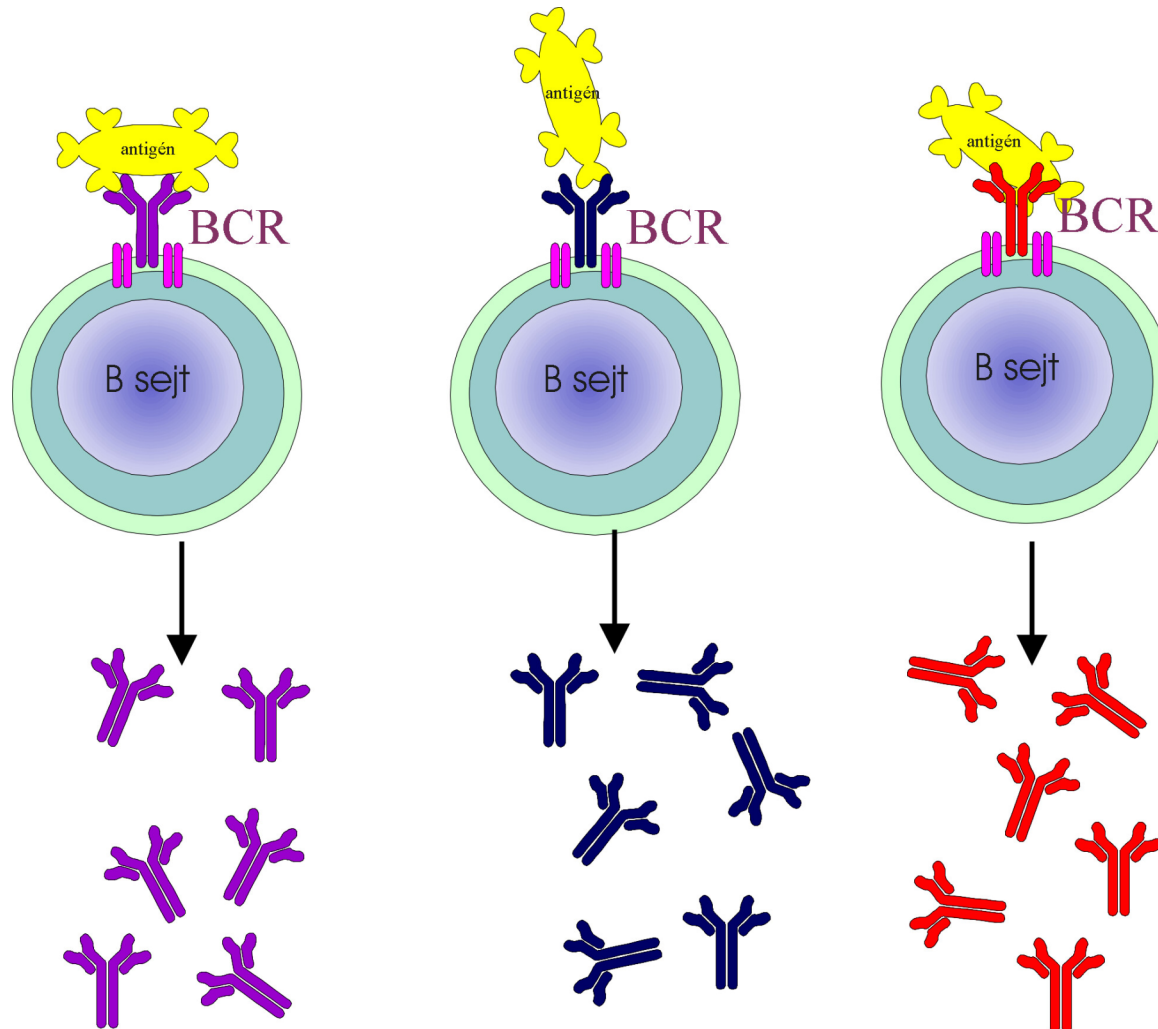
# Az antitest és az epitóp (antigéndetermináns)



# Az antigéndeterminánások tulajdonságai

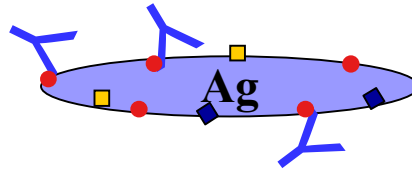


**A komplex antigén poliklonális immunválaszt vált ki, ami eltérő specificitású ellenanyagok termelődéséhez vezet**



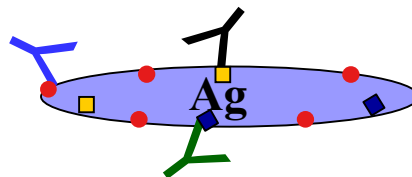
## Monoklonális ellenanyag:

- azonos specificitású ellenanyag molekulák,
- egyetlen B-sejtből származó sejtvonal (sejtklón) termeli
- egyetlen epitóp felismerésére képesek



## Poliklonális ellenanyag:

- több, eltérő specificitású ellenanyag keveréke,
- több B-sejt klón termékei
- egy adott antigén eltérő epitópjait ismerik fel.





## **Immunizálás**

### **Megfelelő állat kiválasztása:**

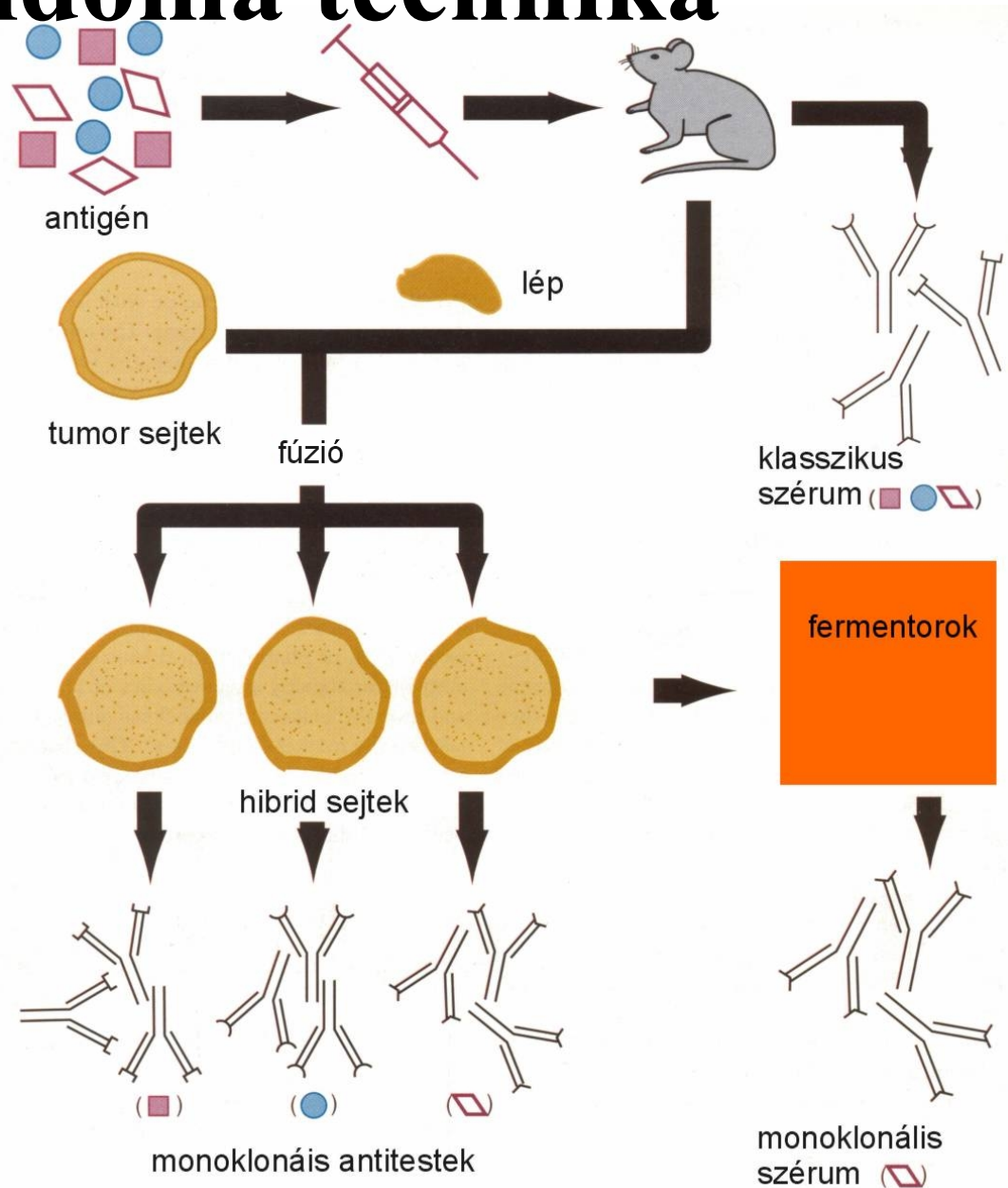
- **Monoklonális antitest – egér v. patkány**
- **Poliklonális antitest – nyúl, birka, kecske**

### **Antigén:**

- **haptén (5-10 kD >) – carrier**
- **natív v. módosított molekulák, sejtek**
- **beadás: musculárisan, subcután vagy intracután**



# A hibridóma technika





# Poliklonális ellenanyag készítmények

1. Humán normál immunglobulin -  
intravénás immunglobulin (IVIg)
2. Humán hiperimmun Ig (önkénteseket  
immunizálnak különböző pathogének  
ellen, majd plazmaferézissel plazmát  
gyűjtenek és Ig-t tisztítanak)
3. Immunizált állatok széruma - antitoxinok  
(nagy méretű állatokat immunizálnak  
inaktivált toxinnal)



# Poliklonális ellenanyag készítmények: IVIG

- Humán normál immunglobulin, intravénás immunglobulin (IVIG)
- Több ezer egészséges véradó egyesített („pool”-ozott), tisztított IgG-je
- A humán plazmát **plazmaferézissel** gyűjtik (600-800ml alkalmanként donoronként, heti 2-3x ismételhető), tisztítás, pathogénmentesítés
- A plazmából legalább 20 féle therapiás fehérjepreparátumot készítenek (az IVIG csak az egyik...).
- Alosztályok megoszlása:
  - IgG1  $\geq$  56,9%
  - IgG2  $\geq$  26,6%
  - IgG3  $\geq$  3,4%
  - IgG4  $\geq$  1,7%
- Minimális IgA tartalom

# IVIg előállítás

## Cohn frakcionálás:

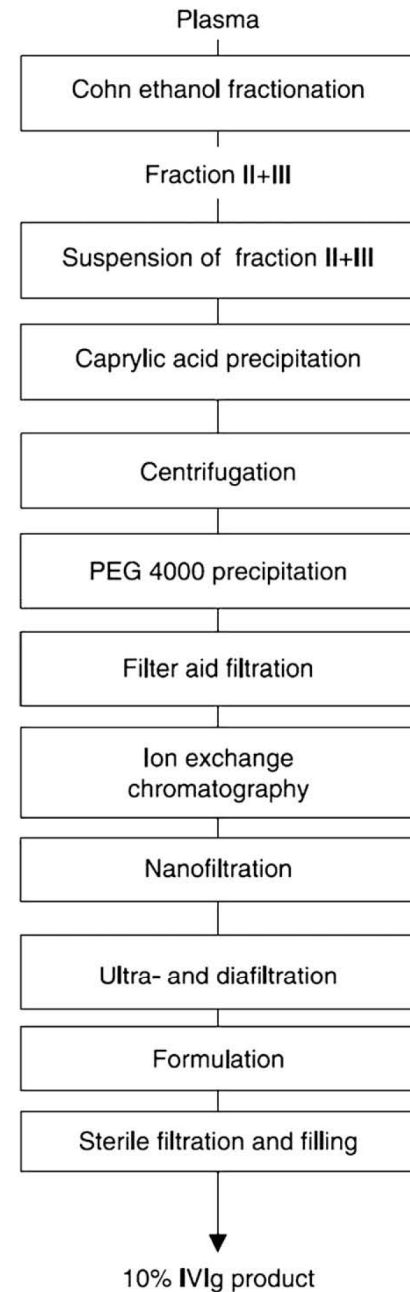
Ethanol 0 → 40%

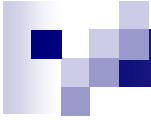
pH 7 → 4.8

25 °C → -5 °C

I frakció: albumin

II frakció: Ig

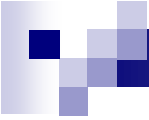




# Poliklonális ellenanyag készítmények: IVIG

## Terápiás javallatok

- Szubsztitúciós terápiaként
- Primer immunhiányos állapotokban:
  - Veleszületett agammaglobulinaemiában és hypogammaglobulinaemiában
  - Közönséges változó immunhiányban
  - Súlyos kombinált immunhiányban
  - Wiskott–Aldrich-szindrómában
- Súlyos szekunder hypogammaglobulinaemiával és visszatérő fertőzésekkel járó myeloma vagy krónikus lymphoid leukaemia (CLL)
- AIDS-szel született és visszatérő fertőzésekben szenvedő gyermekek



# Poliklonális ellenanyag készítmények: IVIG

## Terápiás javallatok

### ■ Immunmoduláció

- Thrombocytaszám-korrekció idiopathiás thrombocytopeniás purpurában (ITP) szenvedő gyermekek és felnőttek esetén, akiknél nagy a vérzés veszélye, vagy akik sebészeti beavatkozás előtt állnak
- Guillain–Barré-szindróma
- Kawasaki-betegség

### ■ Allogén csontvelő-átültetés

### ■ Sepsis



# IVIG

## Ellenjavallatok, mellékhatások

- A homológ immunglobulinokkal szembeni túlérzékenység
  - Ritka esetekben, ha a beteg IgA-ellenes antitestek termelődése miatt IgA-hiányban szenved
  - Anaphylaxiás sokk
- Vérviszkozitás ↑
  - Thromboembolikus események
  - Myocardialis infarctus
  - Stroke, tüdőembólia
  - Mélyvénás thrombosis
  - Ezek megfelelő hidrációval és infúziós sebességgel elkerülhetők
- Veseműködési zavar, akut veseelégtelenség, szacharóz



# Gyógyszerkölcsönhatások és egyéb interakciók

- 6-hetes-3-hónapos időtartamra gyengítheti az élő, attenuált vírust tartalmazó vakcinák hatékonyságát: kanyaró (akár 1 évig), rubeola, mumpsz, bárányhimlő
- Szerológiai tesztek eredményei álpozitívak lehetnek (pl. Coombs teszt)





# Passzív immunizálás

- Baktériumok

Léguti kórokozók pl. *S. pneumoniae*, *H. influenzae*,  
*N. meningitidis*

Diphtheria

Tetanus

*C. Botulinum*

- Vírusok

HAV, HBV, RSV, CMV, VZV, veszettség, kanyaró,  
himlő

- Kígyó-, rovarmérgek



## Egyéb poliklonális ellenanyag terapiák

- Anti-thymocita globulin (ATG): humán timocitákkal szemben termeltetett poliklonális ellenanyag - Immunszuppresszió (pl. szervtranszplantáció után)
- Nyúl - Thymoglobulin (Genzyme)
- Ló - Atgem (Pfizer)