

Львівська медична академія  
ім. Андрея Крупинського

▶ Кафедра лабораторної медицини

▶ Науковий семінар

▶ ТЕМА: **Моноклональні антитіла:  
застосування для діагностики та  
лікування**

▶ К.мед.н., доц. Федечко Й.М.

▶ Викладач-методист Шашков Ю.І.

# МОНОКЛОНАЛЬНІ АНТИТІЛА

## Нобелівська премія за 1984 рік



**Ерне, Нильс**  
(1911-1994)

<http://www.nobeliat.ru/laureat.php?id=359>



**Мильштейн, Сезар**  
(1927-2002)

<http://www.nobeliat.ru/laureat.php?id=361>



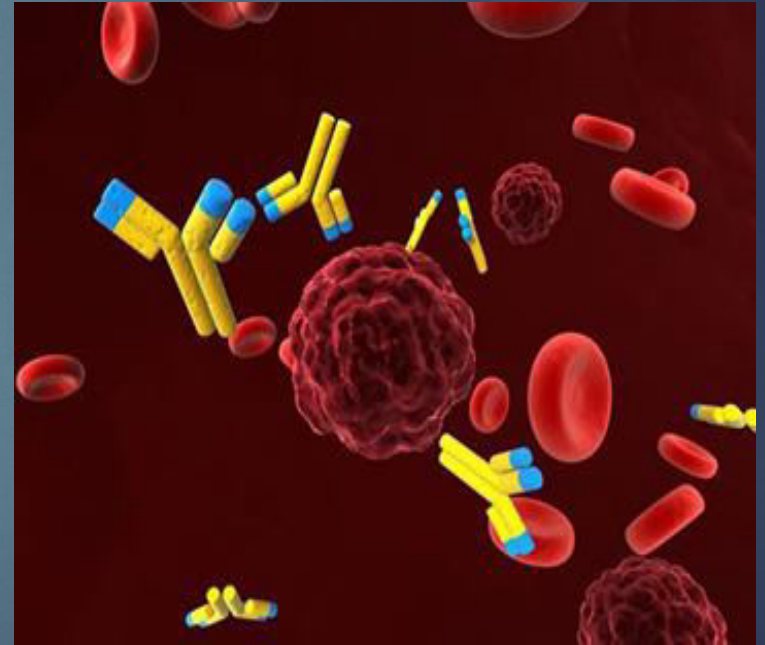
**Келер, Георг**  
(1946-1995)

[http://www.peoples.ru/medicine/immunologist/georg\\_kohler/](http://www.peoples.ru/medicine/immunologist/georg_kohler/)

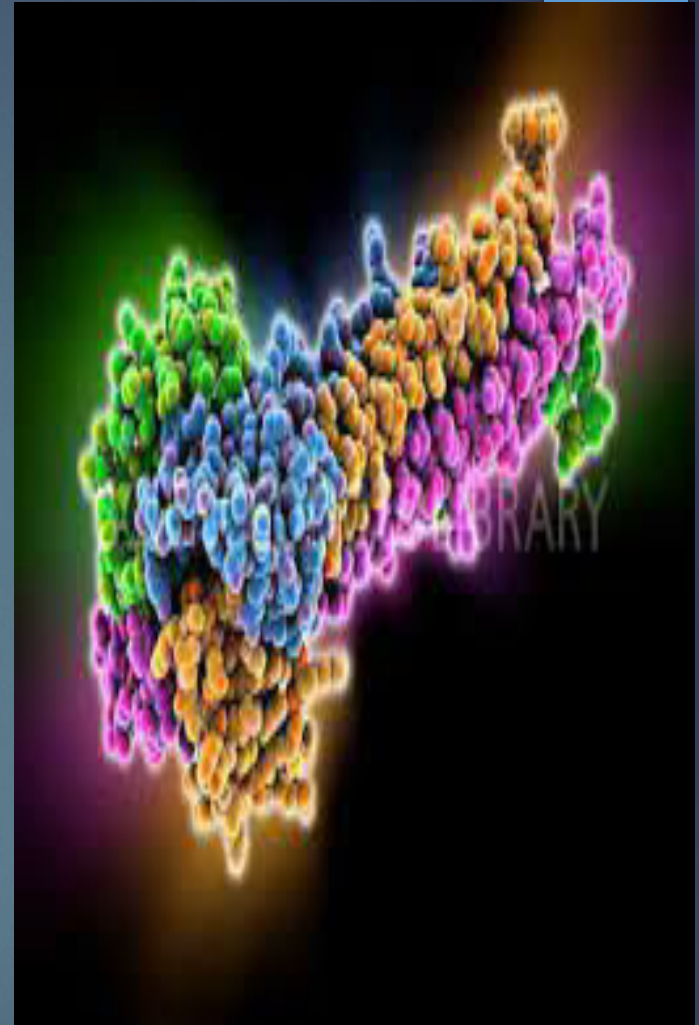
### Формула

**За теорії, касаючися специфичности в розвитку и регуляції імунної системи и откритие принципа производства моноклональних антител**

**Моноклональні антитіла** – це ідентичні молекули імуноглобуліну, які виробляються клоном В-лімфоцитів-гібридом



- ▶ **Гібридома** – це клітина, яка одержана шляхом злиття В-лімфоцита та мієломної клітини
- ▶ **В-лімфоцит** забезпечує синтез однакових молекул імуноглобулінів (антитіл)
- ▶ **Мієломна клітина** забезпечує безмежне розмноження клону
- ▶ **Гібридомний клон** – потомство однієї гібридоми, який синтезує однакові за структурою та специфічністю антитіла



# Відмінності звичайних і моноклональних антитіл

Звичайні антитіла	Моноклональні антитіла
Одержують із сироваток крові імунізованих тварин	Одержують при культивуванні моноклону
Взаємодіють з багатьма детермінантами антигена	Взаємодіють тільки з однією детермінантою антигена
Можуть взаємодіяти з близькими між собою антигенами (недостатньо специфічні)	Високоспецифічні. Взаємодіють тільки з одним антигеном (специфічною детермінантою)

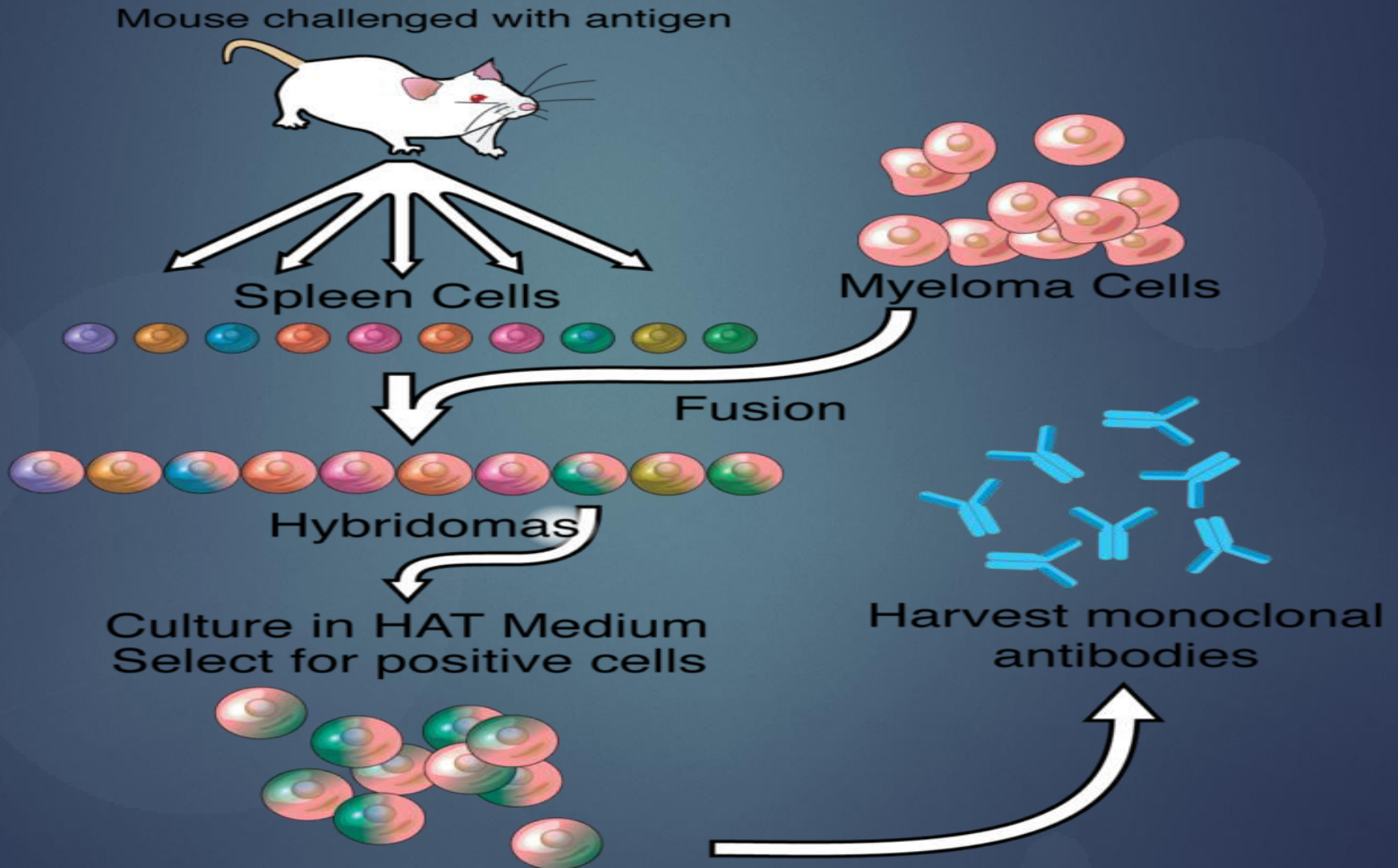
# Одержання звичайних і МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ



# Етапи одержання моноклональних антитіл:

1. Імунізація мишей антигеном
2. Одержання суспензії В-лімфоцитів із селезінки мишки
3. Розподіл лімфоцитів у мікропанелях по одному
4. Кожному лімфоциту підсаляють мієломну клітину
5. Створюють умови для злиття лімфоцита та мієломної клітини (ферменти злиття, спеціальні середовища) і утворення гібридомних клітин
6. Культивування гібридом
7. Пошук гібридоми, котра продукує необхідні антитіла (однієї з кількох тисяч)
8. Одержання клону-продуцента моноклональних антитіл
9. Модифікація одержаних антитіл (приєднання мітки (позначки), молекул лікувального препарату, «гуманізація» антитіл

# Схема одержання МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ





# Технології одержання препаратів МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ

1. Культивування гібридом у спеціальних середовищах.
2. Культивування гібридом у черевній порожнині мишей з наступним одержанням їх із асцитичної рідини.
3. Застосування «фагових дисплеїв» - новітня технологія. **Нобелівська премія за 2018 рік** ( Джордж П. Сміт, Френсіс Арнольд, Грегорі П. Вінтер)

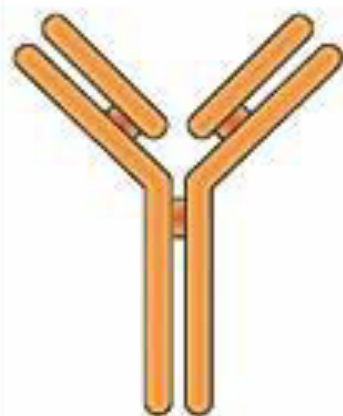
## Лауреати Нобелівської премії за 2018 рік

(застосування фагових дисплеїв для біосинтезів)

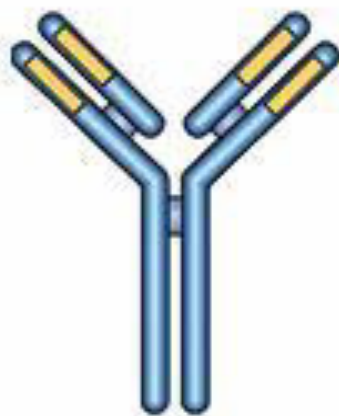
Суть відкриття: гени, що кодують синтез специфічних центрів молекули антитіла вбудовують у бактеріофаги, які вводять у бактерії. У результаті бактерії синтезують необхідне антитіло.



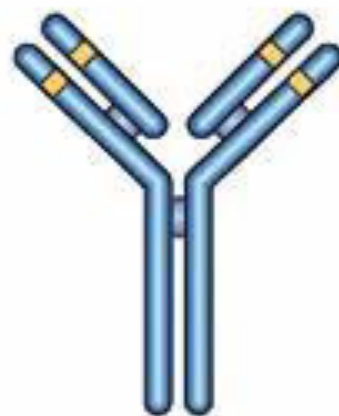
# Сучасні препарати МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ



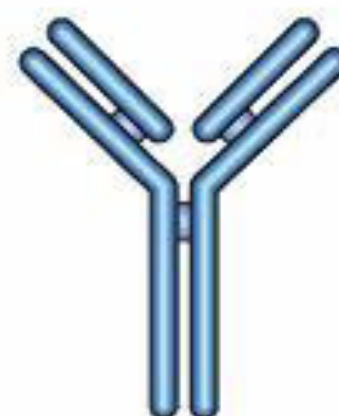
Мишачі



Химерні



Гуманізовані



Людські

**Рис. 4. Еволюція моноклональних антитіл: від мишачих до повністю гуманізованих**

**Химерні антитіла** - специфічний центр зв'язування антитіл з антигеном – з мишачого лімфоцита ( жовта зона молекули антитіла), інша частина – від іншої тварини.

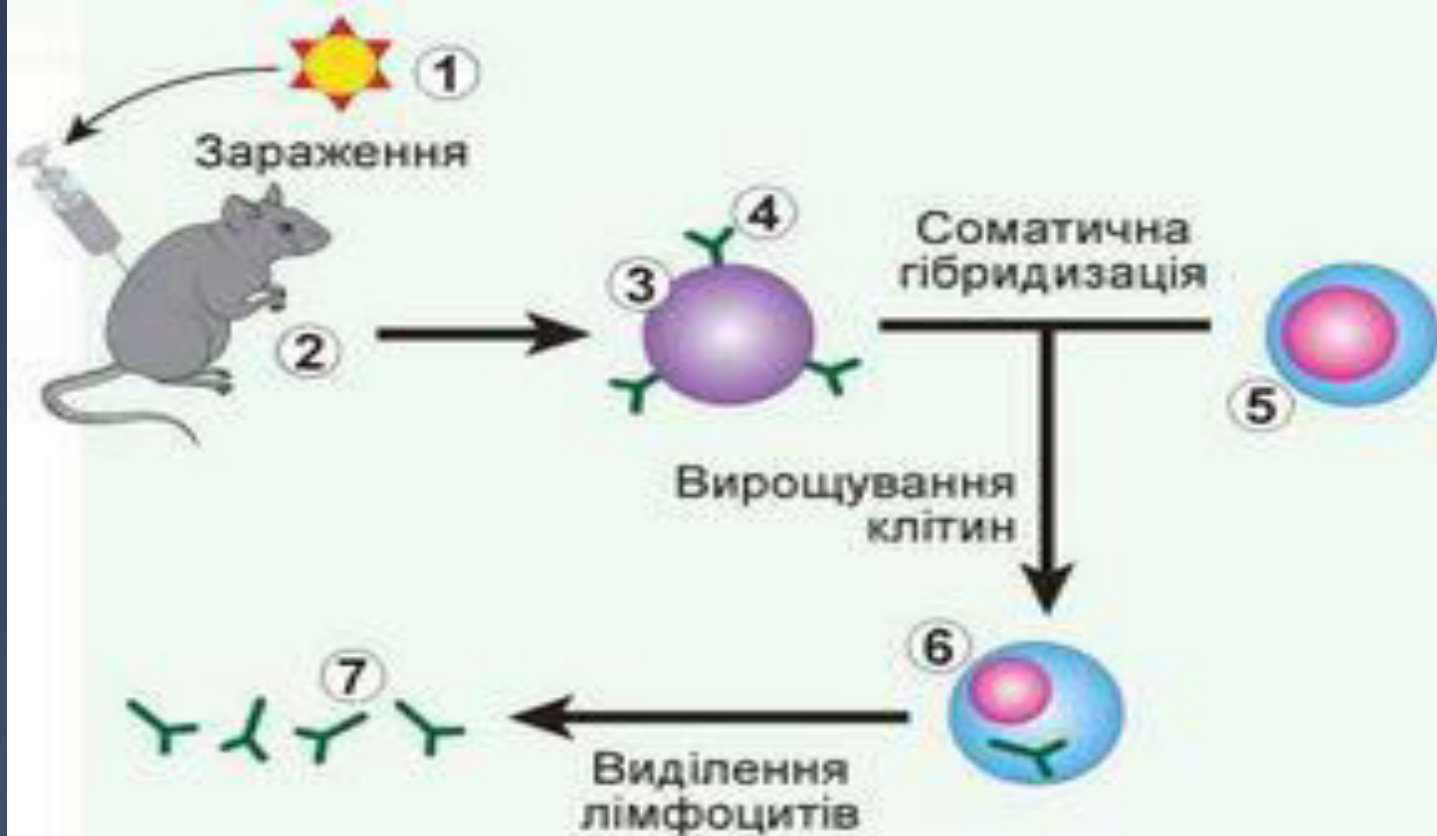
**Гуманізовані моноклональні:** специфічний центр зв'язування антитіл з антигеном – з мишачого лімфоцита ( жовта зона), решта молекули із імуноглобуліну людини. Застосовуються як лікувальні, можна вводити повторно, бо не викликають імунної відповіді організму людини проти себе!)

**Людські моноклональні антитіла**  
синтезуються моноклоном лімфоцитів,  
одержаних від людини

# Технологія одержання гуманізованих моноклональних антитіл

1. Одержані моноклональні антитіла від мишей піддають фрагментації специфічними ферментами
2. Відділяють фрагмент, від якого залежить специфічність антитіл
3. Одержують фрагменти імуноглобуліну людини, що відповідає за видові імунні властивості
4. Об'єднують специфічний фрагмент від мишей і фрагмент імуноглобуліну людини

**Одержане моноклональне антитіло є строго специфічне і тотожне до імуноглобуліну людини і сприймається як «своє»**



**Рис. 61.4. Отримання гібридом, що синтезують антитіла**

1. Антиген.
2. Організм-донор лімфоцитів.
3. Лімфоцит.
4. Антитіло.
5. Клітина пухлини.
6. Гібридома.
7. Утворені антитіла.

## Мічені антитіла

З діагностичною метою використовують антитіла, до яких приєднана молекулярна позначка (мітка), котру легко можна виявити:

**Люмінесцентний барвник** - імунолюмінесцентний аналіз.

**Радіоактивний ізотоп** - радіоімуний аналіз.

**Фермент (ензим)** - Імуноферментний аналіз.

# Напрямки використання МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ

- ▶ **Імуноідентифікація:** ідентифікація бактерій, бактеріальних токсинів, вірусів.
- ▶ **Імунодіагностика** – виявлення антитіл у сироватках пацієнтів (непрямі методики).
- ▶ **Ідентифікація** клітин крові в автоматичних аналізаторах.
- ▶ **Імунохімія** – визначення ферментів, білків тощо.
- ▶ .....?



## ЧАСТИНА II.

# Використання моноклональних антитіл з лікувальною метою

Застосування моноклональних антитіл з лікувальною метою називають **проривом минулого десятиліття.**

Стандартні назви лікувальних препаратів моноклональних антитіл

Закінчуються на -маб (-mab monoclonal antibody)

# Напрямки застосування моноклональних антитіл з лікувальною метою:

Моноклональні антитіла -інгібітори цитокінів  
Лікування автоімунних захворювань

Вид антитіл	Назви	Застосування
<i>Інгібітори цитокінів</i> Фактора некрозу пухлин TNF $\alpha$ I TNF $\beta$ Інгібітор інтерлейкіну 6 Інгібітор інтерлейкіну 2	Адаліумаб ацилізумаб ( Актерма)  Даклізумаб	При ревматоїдному артриті, псоріазі <b>Covid19?</b>

# Таргетна терапія

- ▶ **Таргетна терапія** ( від target -мішень) - терапія із застосуванням препаратів із **чітко визначеною точкою дії** - **контрольною точкою** (мішенню)

# Моноклональні антитіла для таргетної терапії

Захворювання	Мішень	Препарат
Остеопороз	Імуноглобулін Ig2	Інгібітори TNF
Розсіяний склероз	Рецептор CD20 лімфоцитів	Окролізумаб Наталізумаб
Хвороба Альцгеймера	Формування $\alpha$ -амілоїду	Болінезумаб
Хвороба Крона	Інгібітори інтегринів	Ведезулімаб

**Моноклональні антитіла для таргетної терапії пухлин**  
**Нобелівська премія в медицині за 2018 р. за відкриття:**  
**«Імунотерапія пухлин шляхом блокування негативної**  
**іmunної регуляції»**



**Джеймс П. Еліот, Тасукі Хонзе**

# ОСНОВНІ МОНОКЛОНАЛЬНІ АНТИТІЛА ДЛЯ ІМУНОТЕРАПІЇ ПУХЛИН

Препарат, стандартна назва	Комерційні назви	Механізм і точка дії	Застосування
трастзумаб	герцетин	Інгібітор рецептора епідермального фактора росту	Рак грудної залози
Пембролізумаб	Кітруда	Рецептор програмованої смерті клітин	Меланома з метастазами
Ритуксимаб	Мабтера, Рітуксан	Рецептор CD 20 В-лімфоцитів	Лімфолейкоз лімфоми
Іпілімумаб	ервой	Інгібітор рецептора гальмування імунної відповіді	Меланома
нівілмаб	олдіво	Інгібітор рецептора гальмування імунної відповіді	Меланома, рак легень
атезолізумаб	тацентрик	Рецептор програмованої смерті клітин	Рак сечового міхура, простати, легень
рамуцірумаб	цірамза	Інгібітор росту ендотелію судин	Рак шлунка
бевацізумаб		Інгібітор росту ендотелію судин	Колоректальний рак

# Застосування моноклональних антитіл для лікування онкохворих

- Комбіноване лікування – оперативне, радіохіміотерапія.
- Неоперабельні форми.
- Наявність метастазів.

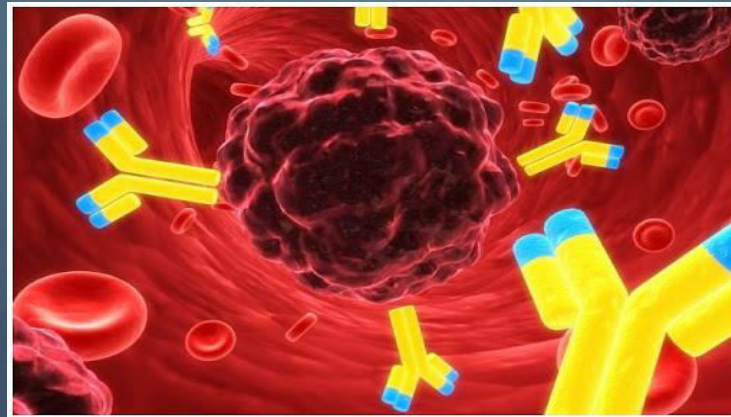
**Ефективність:** збільшення на 30-50% показників лікування, прийнятих в онкології.

**Обмеження:** дуже висока вартість препаратів (до 100 000грн за 1 дозу!)



**Моноклональні антитіла** – це ключі, які  
варто шукати вночі під ліхтарем, бо вони там є!  
(парафраза з відомої історії)

- **Що ви шукаєте вночі під вуличним ліхтарем?**
- **Ключі від квартири.**
- **А Ви точно їх тут загубили?**
- **Ні, але це єдине місце, де видно шукати...**





Дякую за увагу!

