

Η μοριακή βιολογία και η φαρμακολογία των μονοκλωνικών αντισωμάτων και η κλινική τους εφαρμογή στην πολλαπλή σκλήρυνση".

«Κλινική Φαρμακολογία και Θεραπευτική»

5^{ος} Κύκλος

Επιβλέπων: Ηλιόπουλος Ιωάννης

Αδάμ Μαρία

«Μοριακή βιολογία και Γενετική»

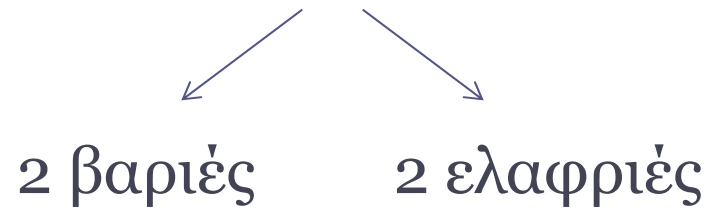


Εισαγωγή

- Παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων:
 - ✓ 40 χρόνια
 - ✓ πολύτιμα εργαλεία με διαγνωστικές και θεραπευτικές εφαρμογές
- Γενετικά τροποποιημένα αντισώματα σχεδιασμένα για συγκεκριμένους μοριακούς στόχους
- Η ειδικότητα τους τα καθιστά ικανά να εμπλέκονται στην παθογένεια των ασθενειών ελαχιστοποιώντας τυχόν ανεπιθύμητες βιολογικές επιδράσεις

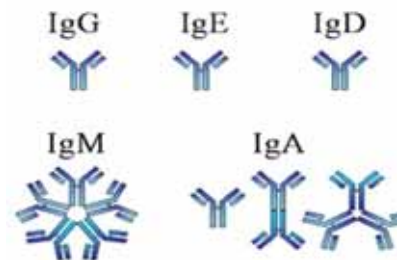
Δομή και λειτουργία των mAbs

- Περιέχουν 4 πολυπεπτιδικές αλυσίδες



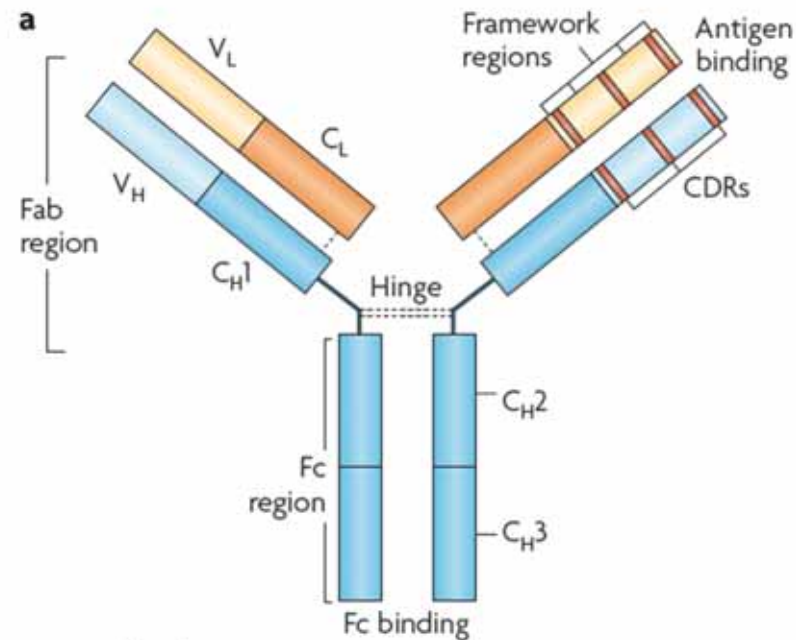
- Συνδέονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς
- Σχηματίζουν την χαρακτηριστική δομή σχήματος Y
- 5 τύποι βαριών αλυσίδων ➡ γ, ε, δ, μ, α

- Τάξη της ανοσοσφαιρίνης ➡



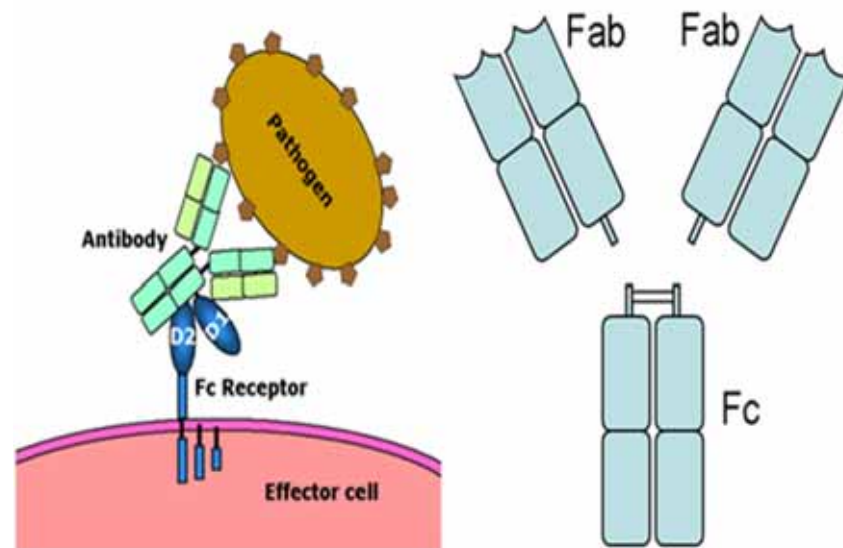
Δομή και λειτουργία των mAbs

- Τόσο οι βαριές όσο και οι ελαφριές αλυσίδες έχουν:
 - ✓ μια *σταθερή* περιοχή που σχηματίζει τη βάση του σχήματος Y
 - ✓ μια *μεταβλητή* περιοχή (Fn περιοχή) που σχηματίζει το βραχίονα του Y



Δομή και λειτουργία των mAbs

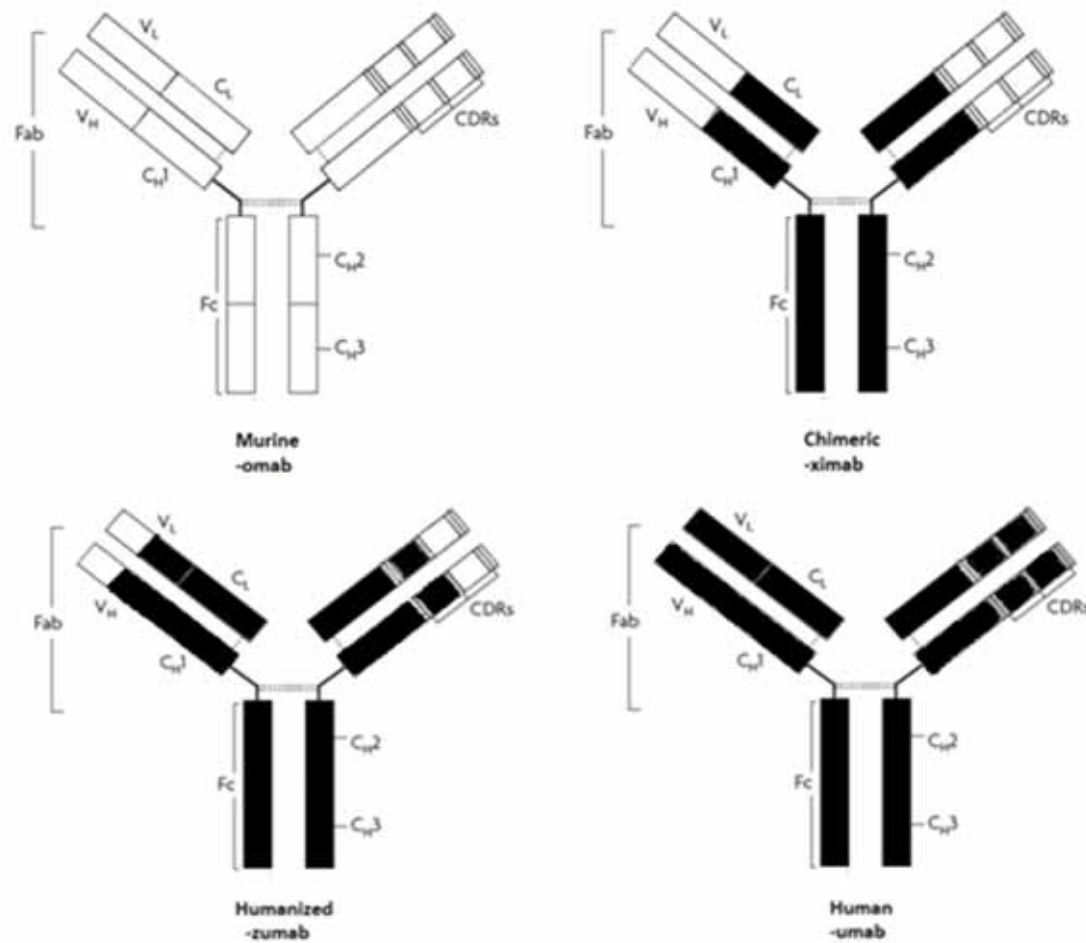
- Μεταβλητή περιοχή → συμπληρωματικές καθοριστικές περιοχές (CDR) που συνιστούν τις θέσεις δέσμευσης με το αντιγόνο
- Σταθερή περιοχή → Fc περιοχή
- Η Fc περιοχή συνδέεται σε ειδικούς Fc υποδοχείς που εκφράζονται σε πολλά είδη κυττάρων και επάγει μια ανοσολογική απόκριση

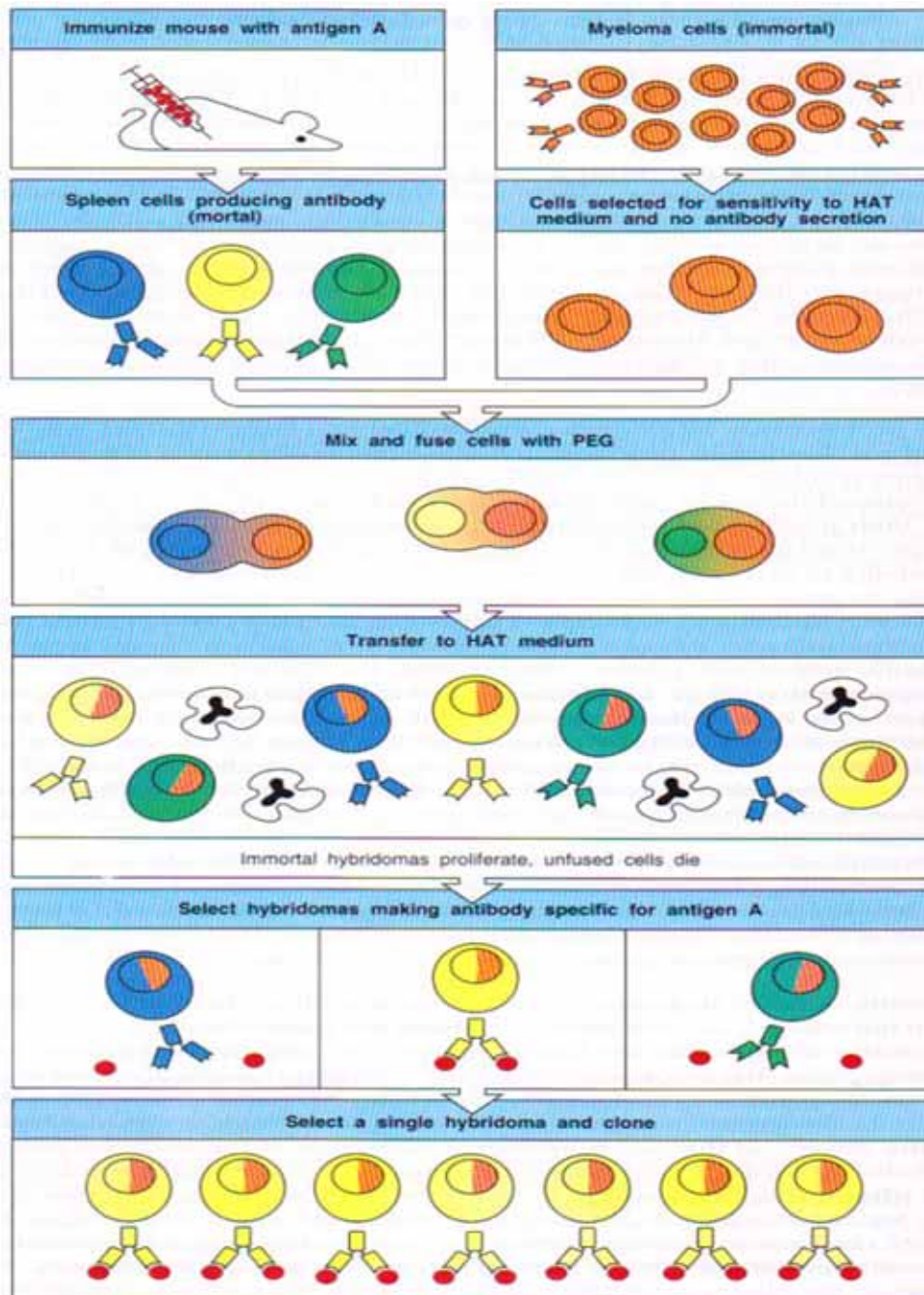


Δομή και λειτουργία των mAbs

- Όλοι οι τύποι αντισωμάτων δεν είναι κατάλληλοι για mAbs.
- Τα mAbs που χρησιμοποιούνται σήμερα είναι IgG ανοσοσφαιρίνες
- οι IgA και IgM δεν χρησιμοποιούνται τόσο συχνά επειδή δεν μπορούν να εξέλθουν εύκολα από τα αιμοφόρα αγγεία και να φτάσουν σε εξωαγγειακές περιοχές.

Δομή και λειτουργία των mAbs



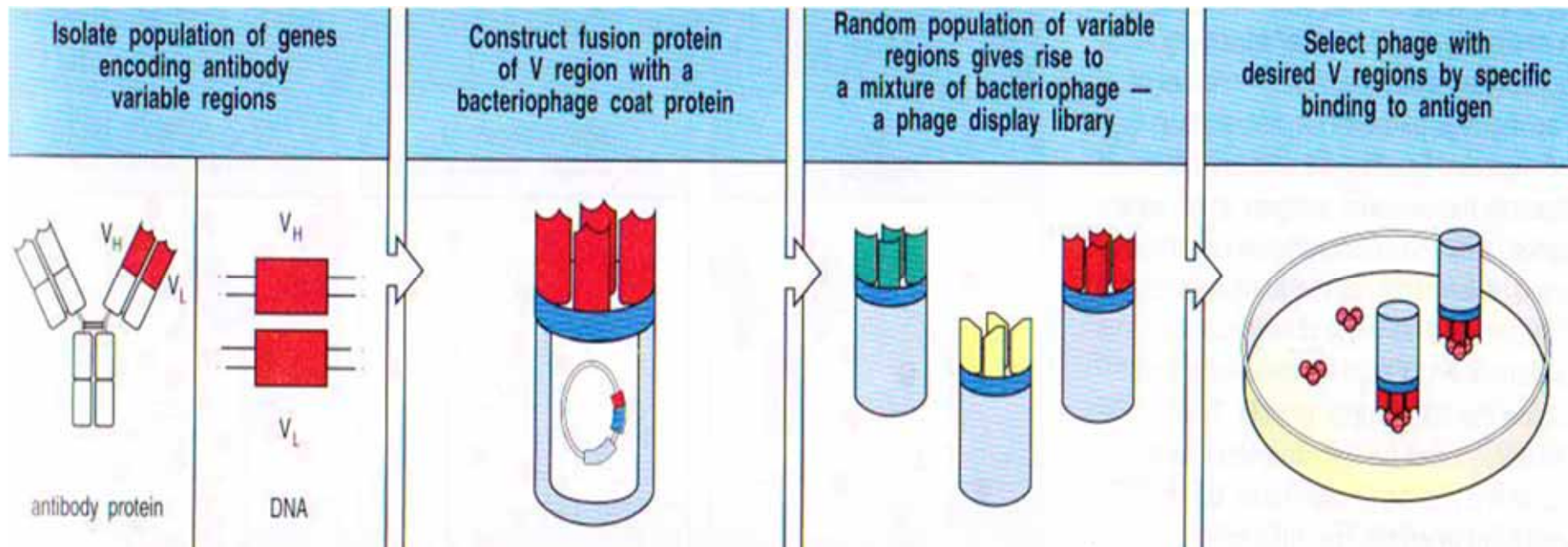


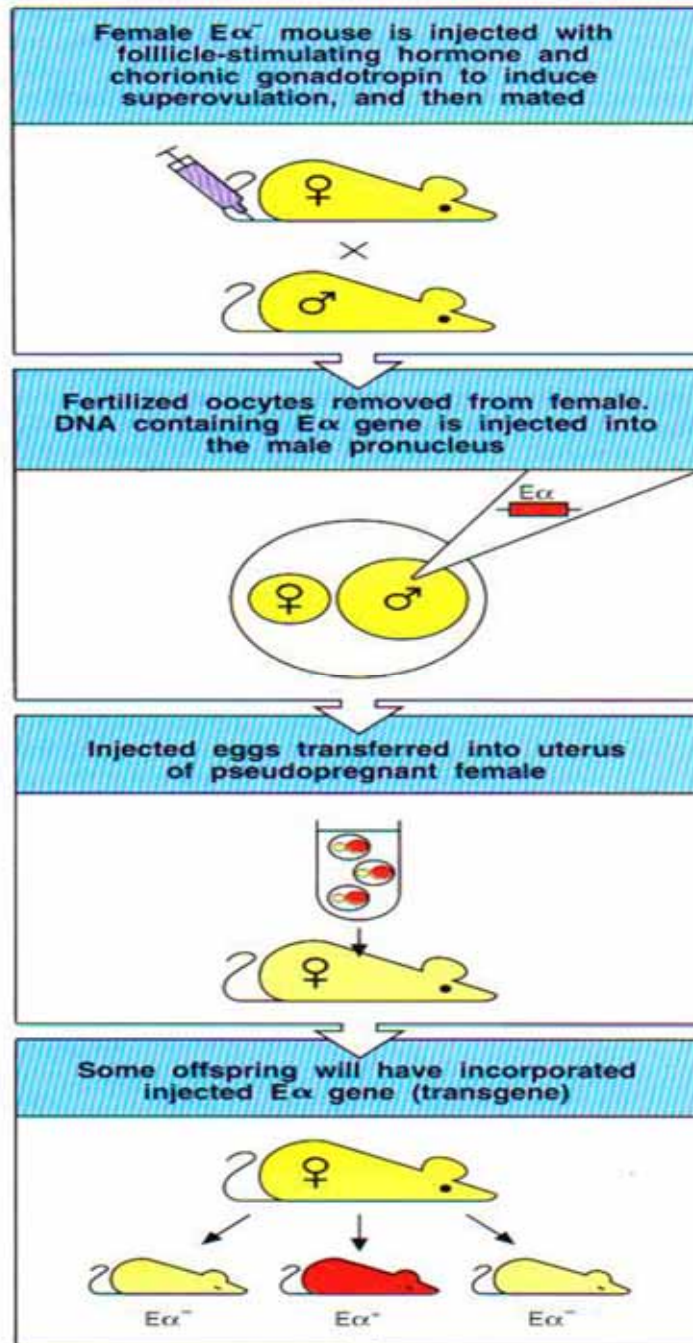
Ανάπτυξη των mAbs

*Kohler-Milstein
Nobel 1984*

Ανάπτυξη των mAbs

- Πεπτιδικές βιβλιοθήκες βακτηριοφάγων





Ανάπτυξη των mAbs

Διαγονιδιακά ποντίκια

Μηχανισμοί δράσης

- Δράση ➡ αγωνιστής ή ανταγωνιστής ενός ειδικού μορίου.
Επαγωγή ή καταστολή μιας σηματοδότησης
- ✓ κυτταρομεσολαβητική κυτταροτοξικότητα εξαρτώμενη από αντίσωμα (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)
- ✓ ή εξαρτώμενη από συμπλήρωμα (complement dependent cytotoxicity, CDC)
- ✓ ή κυτταρική φαγοκυττάρωση εξαρτώμενη από αντίσωμα (antibody-dependent cellular phagocytosis, ADCP)
- Στοχευμένη μεταφορά στον ιστό-στόχο

Παθογένεια της Πολλαπλής Σκλήρυνσης

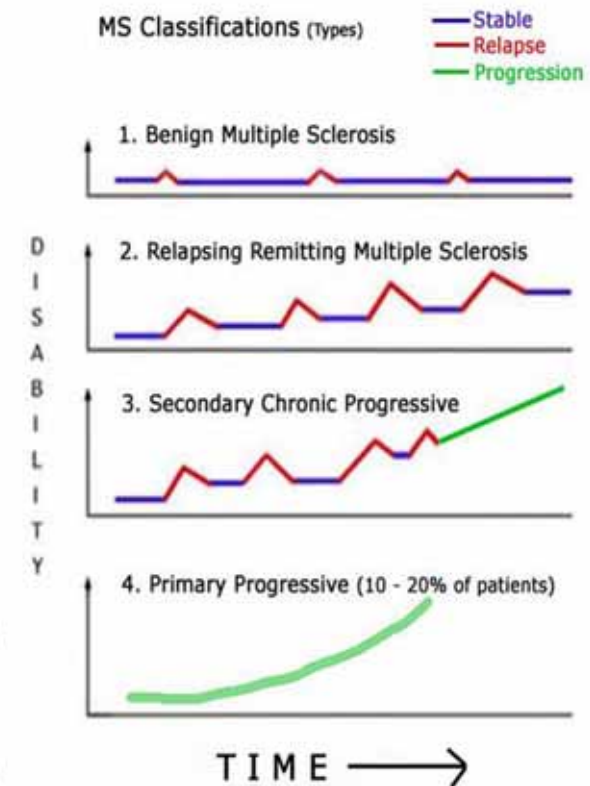
- ΠΣ είναι ένα αυτοάνοσο νόσημα του ΚΝΣ
- Τα Τ-λεμφοκύτταρα ύστερα από την ενεργοποίησή τους στη περιφέρεια διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, εισέρχονται στο κεντρικό νευρικό σύστημα και επιτίθενται στο στρώμα μυελίνης των νευρώνων.
- Οι ιντεγκρίνες προσδένονται στα κυτταρικά μόρια προσκόλλησης που εκφράζονται στην επιφάνεια του αγγειακού ενδοθηλίου και καθιστούν ικανή την διέλευση των Τ κυττάρων μέσω του ΚΝΣ

Παθογένεια της Πολλαπλής Σκλήρυνσης

5 μορφές με βάση την κλινική πορεία της νόσου

- υποτροπιάζουσα ΠΣ
- πρωτοπαθώς προϊούσα ΠΣ
- δευτεροπαθώς προϊούσα ΠΣ
- δευτεροπαθώς προϊούσα με υποτροπές
- καλοήθους μορφή της ΠΣ

□ Η συντριπτική πλειοψηφία των μονοκλωνικών αντισωμάτων που χρησιμοποιούνται σήμερα ή που έχουν μελετηθεί είναι της υποτροπιάζουσα μορφή



Σκοπός της μελέτης

- Ήταν η πραγματοποίηση μιας βιβλιογραφικής ανασκόπησης σχετικά με τη χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων στη θεραπεία της Πολλαπλής Σκλήρυνσης.

Υλικά - Μέθοδοι

- Έγινε αναζήτηση της βιβλιογραφίας στο Pubmed και clinicaltrials.gov
- Οι λέξεις – κλειδιά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι εξής : monoclonal antibodies, multiple sclerosis, alemtuzumab, natalizumab, daclizumab, ocrelizumab, ofatumumab, phage peptide libraries, rituximab, transgenic mice.

Αποτελέσματα

- Βρέθηκαν περίπου 1800 άρθρα από το 2000 - 2014 και επιλέχθηκαν τα 65.
- Τα μονοκλωνικά που εντοπίστηκαν χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες.
- 1^η : Natalizumab (900 άρθρα) και Alemtuzumab (240 άρθρα) συγκεκριμένα για τη θεραπεία Πολλαπλής Σκλήρυνσης.
- 2^η : μονοκλωνικά σε κλινικές μελέτες φάσης III, Daclizumab(130), Ocrelizumab(42), Ofatumumab(26).
- 3^η : μονοκλωνικά σε μικρές μελέτες όπως το Rituximab(293).

Natalizumab

- Το πρώτο εγκεκριμένο αντίσωμα για την θεραπεία της υποτροπιάζουσας μορφής ΠΣ
- ένα ανασυνδυασμένο ανθρωποποιημένο αντίσωμα έναντι της α4 αλυσίδας της α4β1 υπομονάδας της ιντεγκρίνης.

Κλινικές μελέτες

- **AFFIRM** → μεγάλη τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη του Natalizumab.
- 942 ασθενείς με υποτροπιάζουσα ΠΣ έλαβαν αγωγή είτε με 300mg natalizumab ή με εικονικό φάρμακο IV κάθε 4 εβδομάδες για χρονικό διάστημα 2 ετών.
- 88% ελάττωση της συχνότητας των υποτροπών στον 1 χρόνο
- 42% ελάττωση του ρυθμού εξέλιξης της αναπηρίας στα 2 χρόνια.

Κλινικές μελέτες

- **SENTINEL** μια τυχαιοποιημένη μελέτη φάσης III.
- 1171 ασθενείς που ήταν σε θεραπεία με ιντερφερόνη β-1α έλαβαν αγωγή με 300mg natalizumab ή εικονικό φάρμακο κάθε 4 εβδομάδες για διάστημα 2 ετών
- Η συνδυασμένη θεραπεία με ιντερφερόνη και natalizumab έδειξε χαμηλότερο ετήσιο ποσοστό υποτροπών (0.35) σε σύγκριση με τη θεραπεία με ιντερφερόνη και εικονικό φάρμακο (0.75).

Ανεπιθύμητες ενέργειες

- Προϊούσα πολυεστιακή εγκεφαλοπάθεια (PML)
- Είναι μια προοδευτική απομυελινωτική νόσος του ΚΝΣ που οφείλεται σε επανεργοποίηση προηγούμενης λοίμωξης με τον ιό JC (John Cunningham).
- Η λοίμωξη εμφανίζεται συνήθως σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα
- Η κλινική παρουσίαση της PML ➡ προοδευτική άνοια, κινητική δυσλειτουργία και απώλεια της όρασης με θανατηφόρα συνήθως κατάληξη.
- εγκρίθηκε μόνο ως *θεραπεία δεύτερης γραμμής*

Alemtuzumab

- ένα ανθρωποποιημένο αντι-CD52 μονοκλωνικό αντίσωμα
- Η CD52 είναι μια γλυκοπρωτεΐνη της κυτταρικής μεμβράνης η οποία εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στην επιφάνεια των Β και Τ λεμφοκυττάρων

Κλινικές μελέτες

- Σε μια πολυκεντρική μελέτη φάσης II έγινε σύγκριση δύο δόσεων alemtuzumab (24 mg IV και 12 mg IV) με 44 μg ιντερφερόνης β-1 α.
- χορηγήθηκε στη αρχή της μελέτης στους 12 και στους 24 μήνες.
- Μετά από 2 χρόνια θεραπείας ο κίνδυνος εξέλιξης της αναπηρίας :
- μειώθηκε κατά 88% (24 mg IV)
- μειώθηκε κατά 66% (12 mg IV)
- η ομάδα της ιντερφερόνης δεν έδειξε καθόλου μείωση.
- Δεν παρουσιάστηκαν υποτροπές της νόσου

Κλινικές μελέτες

Δυο μελέτες φάσης III δημοσιεύθηκαν το 2012

❖ CARE-MS 1

- ασθενείς που δεν είχαν λάβει προηγούμενη θεραπευτική αγωγή
- έγινε σύγκριση του alemtuzumab με την ιντερφερόνη
- Ετήσια συχνότητα υποτροπών: 0.39 ιντερφερόνη & 0.18 alemtuzumab

❖ CARE-MS 2

- εξέτασε την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια του alemtuzumab σε ασθενείς με υποτροπιάζουσα μορφή ΠΣ ενώ ήταν σε αγωγή με άλλους θεραπευτικούς παράγοντες (83%IFN-β, 34%glatimer, 18% και τα 2, 3% natalizumab)
- Ετήσια συχνότητα υποτροπών: 0.52 ιντερφερόνη & 0.26 alemtuzumab

Ανεπιθύμητες ενέργειες

- Δεν υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές ή θανατηφόρες λοιμώξεις
- Σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης δευτεροπαθών αυτοάνοσων παθήσεων

Rituximab

- χιμαιρικό μονοκλωνικό αντίσωμα
- στρέφεται εναντίον του *CD20* υποδοχέα που εκφράζεται στα Β-λεμφοκύτταρα
- Η σύνδεση του Rituximab στον *CD20* υποδοχέα προκαλεί λύση του κυττάρου στόχου από το CDC και το ADCC και πιθανώς από την προκαλούμενη κυτταρική απόπτωση
- Στην πολλαπλή σκλήρυνση μειώνει 100% των Β κυττάρων στο περιφερικό αίμα

Κλινικές μελέτες

- ❖ HERMES → μία πολυκεντρική, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο φάση III μελέτη
- Σε 104 ασθενείς χορηγήθηκε 1000mg rituximab την 1^η και την 15^η μέρα
- μείωση του ποσοστού υποτροπών στην 24^η και 48^η εβδομάδα.
- ❖ OLYMPUS
- δεν έδειξε κάποια αποτελεσματικότητα στην εξέλιξη της αναπηρίας

Ανεπιθύμητες ενέργειες

- ✓ πυρετός
- ✓ ρίγος
- ✓ υπόταση
- ✓ δύσπνοια

*Εμφανίζονται συνήθως
στην πρώτη έγχυση*

- Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις PML μετά τη θεραπεία με rituximab σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς

Daclizumab

- ένα *ανθρωποποιημένο* αντίσωμα
- εναντίον του *CD25* (α-αλυσίδα του υποδοχέα της ιντερλευκίνης 2, IL2Ra)
- Ο *CD25* υπερεκφράζεται στα ενεργοποιημένα T – λεμφοκύτταρα
- Αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό τους μπλοκάροντας τη σηματοδότηση της IL-2

Κλινικές μελέτες

- SELECT → μελέτη της φάσης II
- ετήσια συχνότητα υποτροπών 0.46 στο εικονικό φάρμακο, 0.21 (-54%) στο Daclizumab 150 mg και 0.23 (-50%) στο Daclizumab 300 mg.
- DECIDE → μελέτη φάσης III
- Σε ασθενείς με υποτροπιάζουσα πολλαπλή σκλήρυνση (RRMS) συγκρίνει το Daclizumab 150 mg υποδόρια κάθε 4 εβδομάδες με την ιντερφερόνη-β1α κάθε εβδομάδα

Ανεπιθύμητες ενέργειες

- ✓ δερματικές αλλεργικές αντιδράσεις
(εξανθήματα ή δερματίτιδα)
- ✓ μια μικρή παροδική αύξηση των ηπατικών ενζύμων
- ✓ λοιμώξεις

OCRELIZUMAB & OFATUMUMAB

- στρέφονται εναντίον του *CD20* υποδοχέα

- Μείωση του πληθυσμού των Β κυττάρων
- Επαγωγή της ADCC
- Ελάττωση CDC

περισσότερο
αποτελεσματικά

Κλινικές μελέτες

- Το ocrelizumab χρησιμοποιήθηκε σε μελέτες φάσης II
- Οι ασθενείς έλαβαν τυχαία ocrelizumab 600mg IV, ocrelizumab 2000mg IV, ιντερφερόνη β-1α IM και εικονικό φάρμακο για 24 εβδομάδες.
- Το ocrelizumab αποδείχθηκε πιο ισχυρό από την ιντερφερόνη και από το εικονικό μειώνοντας το ετήσιο ποσοστό υποτροπών
 - ✓ κατά 80% στην ομάδα των 600mg
 - ✓ κατά 73% στην ομάδα των 2000mg.

Κλινικές μελέτες

- Άλλες δύο μελέτες βρίσκονται σε εξέλιξη και αναμένεται να ολοκληρωθούν το 2015
- Το *ofatumumab* δοκιμάζεται σε μια διπλά τυφλή μελέτη με εικονικό φάρμακο, η οποία αναμένεται να ολοκληρωθεί το 2016

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- mAbs ➡ ένα νέο τρόπο αντιμετώπισης των ασθενειών
 - η αιτιολογία της νόσου παραμένει άγνωστη
 - οι γνώσεις μας για το ανοσοποιητικό σύστημα παραμένουν ελλιπείς
 - Έτσι παρουσιάσθηκαν μη αναμενόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες
- ❖ Η επιλογή των μονοκλωνικών αντισωμάτων στην θεραπεία της πολλαπλής σκλήρυνσης αποτελεί αδιαμφισβήτητα μια εξειδικευμένη και αποτελεσματική αγωγή.



ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ