

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015  
УДК 615.37

## Лекарственные препараты моноклональных антител нового поколения (проблемы и перспективы)

Ж.И. Авдеева, А.А. Солдатов, Н.А. Алпатова, Н.В. Медуницын, В.П. Бондарев, А.Н. Миронов, И.В. Сакаева

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

## Preparations of next generation monoclonal antibodies (issues and prospects)

Zh.I. Avdeeva, A.A. Soldatov, N.A. Alpatova, N.V. Medunitsyn, V.P. Bondarev, A.N. Mironov, I.V. Sakaeva

Federal State Budgetary Institution  
«Scientific Center on Expertise of Medical Application Products»  
of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

В статье приведены сведения, касающиеся проблем клинического применения лекарственных препаратов моноклональных антител (МкАТ), и перспективы разработки препаратов на основе модифицированных МкАТ. Препараты МкАТ на основе рекомбинантных белков характеризуются постоянством физико-химических свойств и высокой специфичностью. Новый класс лекарственных препаратов на основе МкАТ, обладающих большим потенциалом направленного терапевтического воздействия на патогенетически значимые механизмы развития заболеваний, нашел успешное применение при тяжелых хронически протекающих заболеваниях – онкологических, аутоиммунных, инфекционных, аллергических, а также в трансплантологии для лечения и профилактики отторжения трансплантата. Разработка и создание препаратов МкАТ на основе цельной молекулы иммуноглобулина, а также препаратов модифицированных антител, обладающих определенным набором функций, связанных с отдельными структурными элементами молекулы, стало возможным благодаря использованию технологий генной инженерии и трансгенных животных. Лекарственные препараты на основе модифицированных МкАТ могут быть представлены в разных формах, таких как FV-, Fab-, F(ab)<sub>2</sub>-фрагменты, а также в виде бифункциональных гибридных антител или единичных цепей иммуноглобулина (одноцепочечные антитела – scFv). При аутоиммунной патологии успешно применяются препараты на основе МкАТ, ингибирующие активность важнейших провоспалительных цитокинов – ФНО-α, ИЛ-1, ИЛ-6, а также гиперактивацию Т- и В-лимфоцитов. Для лечения онкологических больных используются МкАТ, блокирующие рецепторы факторов роста клеток, МкАТ, направленные к клеточным рецепторам, экспрессированным на опухолевых клетках, а также МкАТ, конъюгированные с изотопами. Ведутся исследования по разработке других конъюгированных препаратов МкАТ. Одной из существенных проблем, связанных с клиническим использованием МкАТ, является проявление их нежелательной иммуногенности, что может быть причиной развития побочных эффектов, иногда требующих клинического вмешательства – инфузионные реакции; анафилаксия; реакции, обусловленные формированием иммунных комплексов; снижение или сведение до минимума клинической эффективности применения МкАТ. Проявления иммуногенности связаны со свойствами препарата, особенностями заболевания, состоянием пациента и сопутствующей терапией. Биотехнологические компании работают над созданием технологий получения препаратов нового поколения, объединяющих в себе преимущества МкАТ и низкомолекулярных препаратов. Такие препараты должны будут характеризоваться высокой специфической активностью, минимальной иммуногенностью и низкой токсичностью.

**Ключевые слова:** лекарственные препараты, моноклональные антитела, препараты модифицированных моноклональных антител, иммуноглобулин класса G, нежелательная иммуногенность, конъюгированные моноклональные антитела, технология генной инженерии, биотехнологические препараты.

**Библиографическое описание:** Авдеева ЖИ, Солдатов АА, Алпатова НА, Медуницын НВ, Бондарев ВП, Миронов АН, Сакаева ИВ.. Лекарственные препараты моноклональных антител нового поколения (проблемы и перспективы). Биопрепараты 2015; (1): 21-35.

The article provides the information on issues related to the clinical use of preparations of monoclonal antibodies (MAb), and the prospects for developing preparations based on modified MAbs. MAb preparations based on recombinant proteins show the consistency of physical and chemical properties as well as high specificity. New class of preparations based on MAbs show great potential of targeted therapeutic influence on important pathogenetic mechanisms of disease development. It has proved to be successful against severe chronic diseases such as autoimmune cancer, infectious and allergic diseases, as well as in transplantation for the treatment and prevention of transplant rejection. The development and manufacture of MAb preparations based on a whole immunoglobulin molecule, as well as preparations of modified antibodies with a specific set of functions associated with individual structural elements of the molecule is now possible due to genetic engineering and transgenic animals technologies. Preparations based on modified MAb can exist in vari-

ous forms such as FV-, Fab-, F(ab)<sub>2</sub> fragments, as well as bifunctional hybrid antibodies or single immunoglobulin chains (single chain antibody, scFv). MAbs inhibiting the activity of principal pro-inflammatory cytokines such as TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 as well as hyperactivation of T- and B-lymphocytes are successfully used in the treatment of autoimmune diseases. In cancer therapy the following types of MAbs are being used: MAb blocking cell growth factor receptors, MAbs directed to cell receptors expressed on tumor cells and MAb-conjugated isotopes. Other MAb-conjugated preparations are under development at the moment. One of the major issues associated with the clinical use of MAbs, are their immunogenicity events, which may cause adverse reactions, sometimes requiring clinical intervention, such as infusion reactions; anaphylaxis; reactions caused by the formation of immune complexes; reduction or minimization of MAb clinical efficacy. Immunogenicity events are associated with drug properties, disease characteristics, patient's condition and concomitant therapy. Biotechnological companies are developing new technologies for drug manufacturing, combining the advantages of MAbs and small molecule preparations. These preparations are expected to show high specific activity, minimal immunogenicity and low toxicity.

**Key words:** drugs (preparations); monoclonal antibodies; monoclonal antibody preparations; modified immunoglobulin G; unwanted immunogenicity; conjugated monoclonal antibodies; genetic engineering technologies; biotechnological preparations.

**Bibliographic description:** Avdeeva ZhI, Soldatov AA, Alpatova NA, Medunitsyn NV, Bondarev VP, Mironov AN, Sakaeva IV. Preparations of next generation monoclonal antibodies (issues and prospects). Biopreparation (Biopharmaceuticals) 2015; (1): 21-35.

## История разработки лекарственных препаратов антител

Разработка новых технологий получения препаратов моноклональных антител (МкАТ) с использованием методов генной инженерии позволяет реализовать терапевтический потенциал лекарственных препаратов на основе антител. Это связано с тем, что иммунная защита организма при бактериальных и вирусных инфекциях во многом обусловлена его способностью продуцировать специфические антитела в ответ на чужеродные антигены. Разработка новых и совершенствование качества ранее выпускаемых лекарственных препаратов на основе антител, специфичных к определенным антигенам, является перспективным и успешно реализуемым направлением в профилактике и лечении инфекционных и других тяжело протекающих заболеваний.

Терапевтическое применение антител началось в 1890–1891 гг., сразу же после того, как Беринг и Китагато показали, что сыворотка крови животных, выживших после введения дифтерийного или столбнячного токсинов, приобретала способность защищать других животных от действия этих же токсинов. Четкие научные представления об антителах в это время еще только начинали формироваться (табл. 1).

Применение пассивной иммунотерапии получило дальнейшее развитие при лечении инфекционных заболеваний в виде препаратов иммуноглобулинов.

Известно, что при введении в организм животных и человека чужеродных макромолекулярных веществ – белков или полисахаридов (антигенов) развивается иммунный ответ, проявляющийся формированием защитных белков – циркулирующих антител, характеризующихся уникальной специфичностью. Каждое антитело узнает одну детерминантную группу антигена, которая состоит из нескольких аминокислот (обычно от 6 до 8 аминокислот), образующих пространственную структуру, характерную для данного белка. В одном белке, состоящем из нескольких сот аминокислот, имеется несколько разных антигенных детерминант (эпитопов), как правило, от 5 до 15, поэтому к одному белку образуется целое семейство различных по своей специфичности антител. Даже к одной антигенной детерминанте образуется целый спектр антител, отличающихся по структуре, степени специфичности и аффинности. У полисахаридных антигенов детерминантные группы состоят из 3–6 остатков моносахаридов.

Следовательно, при введении антигена с целью иммунизации в организме синтезируется большое семейство антител, направленных к разным детерминантам антигена, при этом антитела, направленные к одной и той же детерминанте, также различаются внутри этой группы антител. В крови иммунизированных животных появляется богатый и уникальный по составу спектр антител, который и обеспечивает специфичность в распознавании антигена, используемого для иммунизации.

Лекарственные препараты иммуноглобулинов, получаемые из сывороток крови иммунизированных животных, содержат антитела различной специфичности, т.е. практически это поликлональные антитела. Из всех иммуноглобулинов крови животного, иммунизированного определенным антигеном, только 2% антител специфичны к данному антигену. При этом антитела направлены не к одной антигенной детерминанте (эпиту), а к различным антигенным детерминантам конкретного антигена. Кроме того, антитела, продуцируемые в ответ на иммунизацию антигеном, относятся к разным классам и подклассам иммуноглобулинов. Препараты иммуноглобулинов способны вызывать серьезные побочные эффекты за счет гетерологичности белков, вплоть до анафилактических реакций.

Препараты иммуноглобулинов, получаемые из крови доноров, характеризуются меньшим числом осложнений, однако возможности получения достаточного количества и широкого спектра специфических антител значительно ограничены. При использовании этих препаратов проявляется также регуляторная активность иммуноглобулинов, которую трудно учесть и однозначно прогнозировать. Кроме того, не исключена потенциальная возможность контаминации препарата инфекционными агентами.

Достижения научных разработок в области биотехнологии и генной инженерии позволили получить совершенно новые лекарственные препараты на основе МкАТ, характеризующиеся постоянством физико-химических свойств и высокой специфичностью. МкАТ принадлежат к одному классу иммуноглобулинов (как правило, к иммуноглобулинам класса G – IgG) и специфичны к одной антигенной детерминанте (одному эпиту) определенного антигена. Благодаря возможности получения разнообразных антител, специфичных к широкому спектру антигенов, МкАТ нашли успешное применение в фундаментальных исследованиях, биотехнологии, при создании тест-систем и в клинической практике.

**Таблица 1. История изучения и внедрение в практику препаратов МкАТ**

| Год                                                                                            | Внедрение                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Конец XIX века<br>1890 г.                                                                      | Установлено, что сыворотки крови кроликов, которым вводили дифтерийный токсин, приобрели способность нейтрализовать этот токсин и оказывать лечебное действие при дифтерийной инфекции (E. Behring, Kitasato C.)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 1890 г.                                                                                        | Введение термина «антитело» (Erlisch P.)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 60-70 гг. XX века                                                                              | Достаточно полно расшифрована структура антител (R. Porter, G. Edelman)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 1975 г.                                                                                        | Разработка гибридной технологии получения антител с заданной специфичностью (Kohler G., Milstein C.)<br>Начало использования антител в диагностических целях                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Конец 1970-х гг.                                                                               | Открытие молекулярных основ формирования разнообразия антигенраспознающей способности антител, описано явление соматической перестройки генов иммуноглобулинов (Tonegawa S.)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 1979 г.                                                                                        | Использование МкАТ против опухолевых клеток (P. Stashenko, L. Nadler)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 1986 г.                                                                                        | Использование в клинической практике <b>мышинных</b> МкАТ – препарат <b>муромонаба (Orthoclone, OKT3)</b> для профилактики отторжения трансплантата почки                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 90-е XX века<br>1995 г.<br>1998 г.                                                             | Разработка рекомбинантных <b>химерных</b> МкАТ<br>Использование в клинической практике препарата <b>абциксимаба (ReoPro)</b> для профилактики ишемии миокарда.<br>Одобрены для клинического использования:<br>- <b>ритуксимаб (Mabtera)</b> для лечения больных В-клеточной неходжкинской лимфомой<br>- <b>базиликсимаб (Simulect)</b> для профилактики отторжения трансплантата у пациентов с впервые пересаженной почкой<br>- <b>инфликсимаб (Remicade)</b> для лечения больных ревматоидным артритом                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Конец 90-х XX века<br>– 2000-е XXI века<br>1999 г.<br>1999 г.<br>2000 г.<br>2005 г.<br>2005 г. | Разработка рекомбинантных <b>гуманизированных</b> МкАТ<br>Одобрены для клинического использования:<br>- <b>паливизумаб (Synagis)</b> для профилактики инфекции нижних дыхательных путей, вызванной респираторным синцитиальным вирусом (РСВ) у детей до двух лет с высоким риском заражения РСВ<br>- <b>даклизумаб (Zenarax)</b> для профилактики отторжения трансплантата почки<br>- <b>трастузумаб (Herceptin)</b> для лечения больных раком молочной железы<br>- <b>бевацизумаб (Avastin)</b> для лечения больных метастатического колоректального рака<br>- <b>омализумаб (Cholair)</b> для лечения больных атопической бронхиальной астмой и сезонного аллергического ринита                                                                                                                                           |
| 2000-е XXI века<br>2003 г.<br>2007 г.<br>2009 г.<br>2010 г.<br>2013 г.                         | Разработка рекомбинантных <b>полностью человеческих</b> МкАТ<br>Одобрены для клинического использования:<br>- <b>адалимумаб (Humira)</b> для лечения больных ревматоидным артритом (РА), псориатическим артритом, анкилозирующим спондилитом, болезнью Крона<br>- <b>панитумумаб (Vectibix)</b> для лечения больных метастатическим колоректальным раком<br>- <b>голимумаб (Simponi)</b> для лечения больных РА, псориатическим артритом, анкилозирующим спондилитом, болезнью Крона<br>- <b>офатумумаб (Arzerra)</b> для лечения больных хроническим лимфоцитарным лейкозом (ХЛЛ)<br>Одобрены для клинического использования первые <b>биоподобные («biosimilars»)</b> препараты <b>инфликсимаба (Inflectra и Remsima)</b> для лечения больных РА, болезнью Крона, явненным колитом, анкилозирующим спондилитом, псориазом |

Примечание: для препаратов МкАТ указаны сроки их утверждения в Европейском союзе.

В 1975 г. Георг Келер и Цезарь Мильштейн (немецкий и английский ученые) разработали технологию получения антител одной специфичности, когда из одной клетки, продуцирующей антитела к нужному антигену, получают целую колонию таких же клеток (моноклон) [1]. Путем слияния клетки-продуцента антител (В-лимфоцит) с миеломной клеткой получают гибридомы (иммортиализованные («бес-смертные») В-лимфоциты), которые представляют собой уникальные природные «фабрики», способные в неограниченном количестве производить МкАТ. Получение гибридомы явилось самым ярким и окончательным доказательством клонально-селекционной теории иммунитета Пауля Эрлиха. В 1984 г. ученые Г. Келер и Ф. Мильштейн были отмечены Нобелевской премией. Гибридомные технологии сыграли и продолжают играть чрезвычайно важную роль в фундаментальной и прикладной иммунологии [2, 3].

Гибридомы являются основным источником МкАТ, которые успешно используются в качестве диагностических и аналитических реагентов в фундаментальных исследованиях. Для получения МкАТ гибридоме внедряют в организм мыши, где она в виде опухоли продуцирует соответствующие антитела, накапливающиеся в асцитной жидкости; или используют в виде культуры клеток *in vitro*, которые продуцируют специфические антитела. В дальнейшем собранные биологические жидкости подвергают очистке с помощью соответствующих методов и используют в качестве диагностических и аналитических реагентов в фундаментальных исследованиях.

Препараты МкАТ для терапевтических целей получают путем использования клеточных линий, приготовленных на основе технологии рекомбинантной ДНК или трансгенных животных.

Для создания белков с заданной характеристикой с помощью метода рекомбинантной ДНК используют искусственно созданную последовательность ДНК, части которой могут быть синтезированы химическим путем с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) или клонированы из ДНК различных организмов. Рекомбинантные ДНК встраивают в вектор экспрессии, которым затем трансформируют клетки живых организмов (например, клетки яичника китайского хомячка – CHO).

Трансгенные животные, используемые в технологии получения белков с заданной характеристикой, содержат рекомбинантные гены, встроенные в их хромосомы, кодирующие синтез целевого белка. Генетически модифицированные клетки млекопитающих используются для производства рекомбинантных белков, которые в качестве действующего вещества входят в состав биотехнологических лекарственных препаратов.

## Структура молекулы иммуноглобулина класса G

Благодаря использованию технологий генной инженерии и трансгенных животных стало возможным создание препаратов МкАТ на основе цельной молекулы иммуноглобулина, а также препаратов модифицированных антител, обладающих определенным набором функций, связанных с отдельными структурными элементами молекулы иммуноглобулина. Лекарственные препараты на основе модифицированных МкАТ могут быть представлены в разных формах, таких как Fv-, Fab-, F(ab)<sub>2</sub>-фрагментов, а также в виде бифункциональных гибридных антител или единичных цепей иммуноглобулина. МкАТ лекарственных препаратов,

как правило, относятся к иммуноглобулинам класса G (IgG). На рисунке 1 представлена схема строения молекулы IgG.

Молекула IgG состоит из четырех полипептидных цепей – двух легких цепей (L-цепь) с молекулярной массой по 25 кДа и двух тяжелых цепей (H-цепь), молекулярная масса которых составляет по 50 кДа.

Каждая легкая цепь состоит из переменного ( $V_L$ ) и константного ( $C_L$ ) доменов, каждая тяжелая цепь – из одного переменного ( $V_H$ ) и трех константных ( $C_H1$ ,  $C_H2$  и  $C_H3$ ) доменов. Структуру иммуноглобулиновой молекулы поддерживают дисульфидные связи (на рисунке отмечены красными линиями), которые соединяют между собой тяжелые цепи, легкие цепи с тяжелыми цепями, структуру каждого из доменов стабилизируют внутридоменные дисульфидные связи.

Как видно из рисунка, строение молекулы IgG схематично представлено в виде буквы Y, при этом сверху расположены аминоконцевые (N-концевые) участки четырех цепей, внизу – карбоксильные (C-концевые) участки тяжелых цепей.

Варибельный фрагмент IgG (FV) включает два переменных домена (V-домена), локализованных в рядом расположенных тяжелой и легкой цепях ( $V_H$  и  $V_L$ ). От взаимодействия  $V_H$ - и  $V_L$ -областей зависит специфичность иммуноглобулинов как антител.

Степень варибельности аминокислотных остатков в V-доменах неравномерна. Различают, так называемые «гиперварибельные» участки, в которых варибельность наиболее высока и которые определяют комплементарность антитела к антигену (CDR участки). Выделяют по три участка CDR в V-доменах тяжелой и легкой цепей. Указанные участки V-домена чередуются с четырьмя «каркасными» относительно консервативными/инвариантными участками (FR-участки), на долю последних приходится около 80% аминокислотной последовательности V-доменов. FR участки поддерживают трехмерную структуру V-доменов, которая необходима для обеспечения аффинного взаимодействия гиперварибельных участков с антигеном. Кроме того, считают, что FR участки могут принимать участие в распознавании антигена, но в меньшей степени. Доля поверхности таких участков от общей площади контактирующих поверхностей антигена и антитела может составлять до 15%.

N-концевые домены легкой и тяжелой цепи (варибельные домены  $V_H$  и  $V_L$ ) различаются у разных антител с различной антигенной специфичностью, в то время как константные домены иммуноглобулина ( $C_L$  и  $C_H$ ) характеризуются видовой специфичностью.

Fab-фрагменты IgG, ответственные за связывание антигена, включают V-домены легкой и тяжелой цепи ( $V_L$  и  $V_H$ ) вместе с ближайшими константными доменами ( $C_L$  и  $C_H1$ ) легкой и тяжелой цепи. Другая часть молекулы IgG обозначается как Fc-фрагмент и включает C-концевые константные домены тяжелых цепей.

В месте соединения Fab- и Fc-фрагментов, между  $C_H1$  и  $C_H2$  доменами H-цепи располагается «шарнирная область», обогащенная пролиновыми остатками, которая обеспечивает конформационную гибкость молекулы иммуноглобулина. Подвижность Fab-фрагмента необходима для успешного взаимодействия с антигенными детерминантами на поверхности белковой молекулы или клетки. Дисульфидные связи в данном участке молекулы IgG соединяют между собой тяжелые цепи.

Присутствующие в каждой молекуле IgG два идентичных антигенсвязывающих центра дают возможность антителам

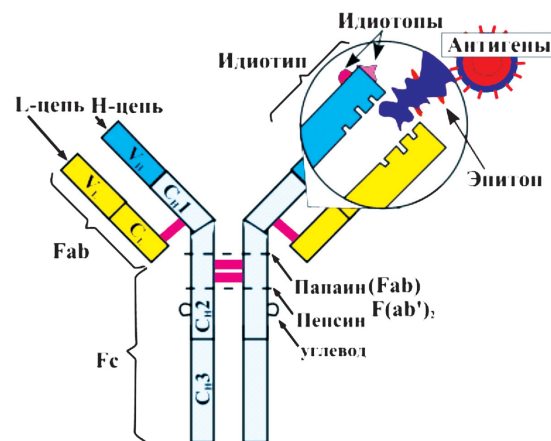


Рис. 1. Строение молекулы иммуноглобулина класса G.

перекрестно связывать антигены с двумя или более антигенными детерминантами. Подвижность участков молекулы антител позволяет ей одновременно связываться с антигенными детерминантами, находящимися на разных расстояниях.

Незащищенный шарнирный участок, отличающийся высоким содержанием пролина, имеет достаточно протяженную структуру и доступен для воздействия протеолитических ферментов, таких как папаин и пепсин.

Папаин расщепляет молекулу иммуноглобулина (в шарнирной области, выше дисульфидных связей, соединяющих H-цепи) на два одинаковых Fab-фрагмента, каждый из которых имеет один антигенсвязывающий центр, и Fc-фрагмент, который не обладает способностью к связыванию антигена.

Пепсин расщепляет молекулу в другом месте (ниже дисульфидных связей, соединяющих H-цепи), отсекая  $F(ab')_2$ -фрагмент, который, как и исходное антитело, бивалентен в отношении связывания антигена, т.е. содержит два антигенсвязывающих центра.

Константные домены тяжелых цепей, как правило, гликозилированы, тип гликозилирования варьирует у разных видов организмов; при этом даже иммуноглобулины одного изотипа внутри одного вида организмов имеют гетерогенное гликозилирование. Особенности гликозилирования влияют на проявления эффекторных функций иммуноглобулина.

Fc-фрагмент иммуноглобулина участвует в реализации эффекторных функций антител. При этом  $C_H2$ -домен является местом присоединения углеводов и связывания белка системы комплемента C1q.  $C_H3$ -домен взаимодействует с Fc-рецепторами (FcγR), расположенными на поверхности клеток, принимающих участие в иммунологических реакциях, таких как естественные киллеры; киллеры, активированные цитокинами; макрофаги; нейтрофилы. Указанные клетки экспрессируют рецепторы к Fc-фрагменту IgG – FcγRI (CD16), FcγRII (CD32), FcγRIII (CD64).

Участок, соединяющий  $C_H2$ – $C_H3$  домены IgG, взаимодействует с неонатальным Fc-рецептором (FcRn), а также с бактериальными белками A и G. Указанный рецептор присутствует на клетках эндотелия сосудов, эпителия кишечника, эндотелия ЦНС, антигенпрезентирующих клетках, подоцитах (висцеральные эпителиальные клетки) почек и легких [4]. FcRn-рецептор отличается от классического Fc-рецептора и компонента системы комплемента C1q,



которые взаимодействуют с C<sub>H</sub>3- и C<sub>H</sub>2-доменами IgG соответственно.

FcRn рецептор ответствен за перенос IgG через эпителиальный и эндотелиальный барьеры. FcRn рецептор активно связывает IgG в лизосомах эндотелия сосудов при значениях pH 6,0–6,5, но не при нейтральных и более высоких значениях pH. Сформированный с FcRn комплекс защищает IgG от лизосомальной деградации. При изменении pH до 7,2 комплекс диссоциирует и IgG попадает в кровоток. Указанная способность IgG связываться с FcRn играет важную роль в поддержании гомеостаза и контроле уровня антител данного изотипа в сыворотке крови. Некоторые авторы объясняют этим механизмом большую продолжительность периода полужизни IgG по сравнению с антителами других изотипов [5].

При конструировании новых модификаций MkAT возможно внесение изменений в участок молекулы иммуноглобулина, ответственный за связь с FcRn-рецептором, позволяющим увеличить или снизить продолжительность периода полужизни разрабатываемого препарата.

Если рассматривать иммуноглобулин как молекулу с антигенными свойствами, то антигенная специфичность характерна и уникальна для вариабельных участков. В структуре молекулы IgG выделяют эпитоп (антигенная детерминанта) – часть молекулы антигена, структура которого комплементарна активному центру антител или Т-клеточному рецептору и идиотоп – эпитоп, связанный с антигенраспознающим участком антител, который локализуется в вариабельных зонах молекулы иммуноглобулина. Антигенные типы иммуноглобулинов обозначают как идиотипы, которые являются маркерами антител. Формирующиеся в организме антитела, специфичные к идиотипам иммуноглобулинов (антиидиотипические антитела), играют важную роль в специфической регуляции иммунного ответа, а также могут продуцироваться в ответ на повторные введения лекарственных препаратов MkAT.

## Виды MkAT, используемых в качестве лекарственных препаратов

В качестве лекарственных препаратов используют химерные, гуманизированные и полностью человеческие MkAT.

Основные требования, предъявляемые к препаратам MkAT, используемым в терапевтических целях, заключаются в том, что антитела не должны проявлять выраженной иммуногенности при введении человеку, должны иметь длительный период полувыведения и быть устойчивыми к агрегации, преципитации и действию протеаз. Кроме того, при разработке лекарственных препаратов MkAT должны учитываться и такие свойства иммуноглобулинов, как аффинность, эффекторные функции и способность проникать в ткани.

Химерные MkAT представляют собой иммуноглобулины, для которых гены легкой и тяжелой цепей сконструированы из сегментов генов иммуноглобулинов разного видового происхождения. Как правило, это гибридный белок, который состоит V-домена (антигенсвязывающего домена) мышиного иммуноглобулина и C-доменов (эффекторных доменов) иммуноглобулина человека. Химерные антитела содержат 30–35% мышиного и 65–70% белка человека. Примером химерных MkAT могут служить препараты: ритуксимаб – Мабтера (антитела к CD20 В-лимфоцитов);

базиликсимаб – Симулент (антитела к CD25 активированных Т-лимфоцитов); инфликсимаб – Ремикейд (антитела к ФНО-α) и др.

Гуманизированные MkAT представляют собой иммуноглобулины, которые включают, по меньшей мере, один CDR участок мышиного антитела, при этом константная область идентична константной области иммуноглобулина человека. То есть аминокислотные последовательности гуманизированного иммуноглобулина за исключением CDR-участка, по существу, идентичны последовательностям природного иммуноглобулина человека. Гуманизированные антитела содержат 90–95% белка человека и 5–10% белка мыши. Примером гуманизированных MkAT могут служить препараты: алемтузумаб – Кэмпас (антитела к CD52 В- и Т-лимфоцитов, моноцитов и макрофагов); даклизумаб – Зенопакс (антитела к CD25 активированных Т-лимфоцитов); окрелизумаб (антитела к CD20 В-лимфоцитов); трастузумаб – Герцептин (антитела к рецептору эпидермального фактора роста человека 2 типа (HER2) на опухолевых клетках) и др.

Лекарственные препараты, созданные на основе гуманизированных MkAT, имеют следующие преимущества перед препаратами на основе мышиных и химерных MkAT:

- более эффективно проявляется комплемент-зависимая и (или) антителозависимая клеточная цитотоксичность (КЗЦ и (или) АЗКЦ) за счет того, что Fc-фрагмент, ответственный за эффекторные функции, является фрагментом иммуноглобулина человека и поэтому лучше взаимодействует с другими компонентами иммунной системы человека; ксеногенная природа мышиных MkAT не дает возможность эффективно включить систему комплемента и механизмы элиминации чужеродного антигена (КЗЦ и АЗКЦ), поскольку Fc-рецепторы клеток иммунной системы человека плохо распознают мышиные MkAT;

- при повторном введении лекарственного препарата индукция иммунного ответа будет менее выраженной по сравнению с препаратом на основе мышиного или химерного иммуноглобулина, поскольку каркасный участок и Fc-фрагмент гуманизированного иммуноглобулина не будут распознаваться иммунной системой человека как чужеродные; в связи с этим риск развития побочных реакций в случае формирования антител к лекарственному препарату гуманизированных MkAT будет ниже;

- период полужизни гуманизированного иммуноглобулина будет практически соответствовать периоду полужизни природного иммуноглобулина, что очень важно в плане разработки схемы клинического применения препарата (доза и частота введения препарата может быть ниже по сравнению с препаратами на основе мышиных или химерных MkAT).

Мышиные MkAT имеют короткий период полувыведения за счет включения в организме человека сложных механизмов, направленных на быструю элиминацию из плазмы крови чужеродных белков, в том числе, белков животного происхождения. Следует также отметить, что мышиные антитела *per se* обладают непродолжительным периодом полужизни (от 1 до 4 суток), несопоставимым с аналогичным показателем для антител человека (до 23 суток).

Одной из существенных проблем, связанных с клиническим использованием препаратов мышиных и гуманизированных MkAT, является возможность развития иммунного ответа на чужеродные участки иммуноглобулина, входящие в состав их молекул. Это приводит к выработке антител, спец-

и фичных к антигенным компонентам препарата, которые могут оказывать влияние, в первую очередь, на его фармакокинетические свойства. Снижение фармакокинетических параметров приводит к потере специфической активности и снижению терапевтической эффективности препарата.

Для решения проблем, связанных с развитием нежелательного иммунного ответа были разработаны стратегии, позволяющие с помощью методов генной инженерии получать белковые препараты, строение которых максимально приближено к строению белковых молекул иммуноглобулина человека. Применение таких препаратов позволяет избежать развития иммунного ответа у пациентов, которым назначают лекарственный препарат МкАТ для длительного применения. С этой целью созданы полностью человеческие рекомбинантные МкАТ, представляющие собой иммуноглобулины, в которых переменные и константные домены имеют аминокислотные последовательности, соответствующие иммуноглобулину человека. Примером полностью человеческих МкАТ могут служить препараты: офатумумаб – Арзерра (антитела к CD20 В-лимфоцитов); адалимумаб – Хумира (антитела к ФНО- $\alpha$ ); устекинумаб – Стелара (антитела к субъединице р40 интерлейкинов человека ИЛ-12 и ИЛ-23) и др.

В качестве лекарственных препаратов используют также белки слияния/фьюжен белки, в которых имеются отдельные компоненты белковой молекулы, ответственные за реализацию различных функций. Примером может служить препарат этанерцепт, используемый при лечении системных аутоиммунных ревматических заболеваний. Этанерцепт представляет собой растворимую белковую молекулу, которая состоит из внеклеточного домена CTLA 4 и Fc-фрагмента иммуноглобулина G1. Молекула CTLA 4 взаимодействует с CD 80/86 на антигенпрезентирующих клетках и тем самым препятствует связыванию с ними молекул CD28, экспрессированных на Т-лимфоцитах, что приводит к подавлению активации Т-клеток.

На рисунке 2 представлена схема строения химерных, гуманизированных и полностью человеческих МкАТ.

Полностью человеческие МкАТ наиболее ценны для терапевтического применения, поэтому было разработано несколько подходов к их получению из различных источников: человеческих гибридом, трансгенных мышей и *in vitro* библиотек.

Наиболее сложным является получение стабильной линии человеческих гибридом, продуцирующих высокоаффинные МкАТ, поскольку отсутствует подходящая клеточная линия человеческой миеломы.

Другим способом получения полностью человеческих МкАТ является использование трансгенных мышей, у которых собственные гены иммуноглобулинов заменены на человеческие. Но при таком подходе, как и при получении МкАТ человека с помощью гибридомной технологии, набор антигенов, против которых могут быть получены антитела, ограничен только теми антигенами, которые могут быть использованы для иммунизации, при этом невозможно получить необходимые в терапии антитела против собственных белков человека.

Спектр антигенов может быть практически неограничен, если в качестве источника антигенсвязывающих доменов антител использовать комбинаторные библиотеки. В этом случае антигенсвязывающий сайт антитела желаемой специфичности отбирается из широкого репертуара фрагментов антител, которые экспонированы на поверхности

бактериофагов, либо с помощью других дисплейных технологий – на рибосомах или дрожжах. При этом существуют различные подходы к созданию комбинаторных библиотек, и выбор того или иного подхода зависит от конкретной задачи, которую ставит перед собой разработчик лекарственного препарата МкАТ.

### Лекарственные препараты МкАТ (простые (неконъюгированные) и конъюгированные)

В практической медицине используется более 35 препаратов МкАТ для лечения заболеваний, характеризующихся длительным прогрессирующим течением. Лекарственные препараты МкАТ в настоящее время по объему производства занимают на мировом фармацевтическом рынке второе место после вакцин. Большая часть препаратов МкАТ используется в онкологии, другие – для лечения аутоиммунных, инфекционных, аллергических заболеваний, а также в трансплантологии для профилактики и лечения реакции отторжения после трансплантации органов.

Клиническая эффективность использования препаратов МкАТ обусловлена высокой избирательностью и специфичностью их действия на определенные звенья патогенеза заболеваний. Они в минимальной степени затрагивают процессы нормального функционирования иммунной системы, обладают способностью подавлять системные реакции воспаления при аутоиммунных заболеваниях и активировать иммунную систему на борьбу с опухолевыми клетками при онкологии.

Среди лекарственных препаратов МкАТ, которые успешно используются для лечения тяжелых хронически протекающих заболеваний, выделяют два типа антител:

- простые (неконъюгированные) МкАТ, которые непосредственно участвуют в реализации терапевтического действия препарата;

- конъюгированные МкАТ, лечебный эффект которых обусловлен присоединенными к антителу веществами (радиоактивными частицами, цитостатиками или токсинами).

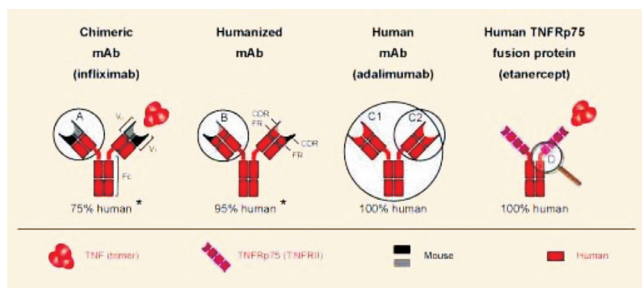
От общего объема рынка всех продаваемых препаратов МкАТ противоопухолевые препараты МкАТ составляют 50%, препараты, используемые для лечения аутоиммунных заболеваний – 37%, для лечения заболеваний органов дыхания – 11%, для лечения сердечно-сосудистых заболеваний – 2%.

#### Простые/неконъюгированные препараты МкАТ

В ревматологии успешно применяются следующие биотехнологические лекарственные препараты на основе МкАТ – инфликсимаб, адалимумаб, голимумаб (антитела к ФНО- $\alpha$ ), ритуксимаб (антитела к CD20 – рецептору на В-лимфоцитах); тоцилизумаб (антитела к рецептору интерлейкина-6); фьюжен белки – этанерцепт (антагонист ФНО- $\alpha$ ); абатацепт (ингибитор ко-стимулирующего сигнала, необходимого для полной активации Т-лимфоцитов); анакинра (антагонист рецептора интерлейкина-1) и другие [6–10].

Указанные препараты направлены на подавление различных механизмов развития воспаления при системных аутоиммунных ревматических заболеваниях, в частности, при ревматоидном артрите, болезни Крона, язвенном колите, анкилозирующем спондилите. Данные препараты проявляют свое действие за счет следующих эффектов:

- блокирование проявлений активности провоспалительных цитокинов, путем воздействия на сам цитокин, его ре-



**Рис. 2. Схема структуры химерных, гуманизированных, полностью человеческих МкАТ и фьюжен белков/белков слияния.**

цепторы и другие функционально связанные с ним цитокины;

- торможение процесса взаимодействия иммунокомпетентных клеток и их активации;
- частичная элиминация отдельных субпопуляций клеток иммунной системы, участвующих в развитии воспаления за счет иммуноопосредованной (антитело- и комплементзависимой) цитотоксичности и др.

Указанные эффекты позволяют ограничить гиперактивацию функций иммунной системы и существенно подавить развитие острого и хронического воспаления при системных заболеваниях соединительной ткани.

Лекарственные препараты МкАТ, используемые в онкологии, могут быть предназначены для непосредственного воздействия на клетки-мишени или адресной доставки лекарственных препаратов, токсинов, изотопов к опухолевым клеткам [11, 12].

Простые МкАТ по-разному реализуют свое воздействие на злокачественную опухоль. Одни неконъюгированные МкАТ, связываясь с соответствующим антигеном на опухолевых клетках, запускают естественные механизмы иммунного ответа организма, которые разрушают опухолевые клетки за счет цитотоксического действия. Другие МкАТ реализуют свое воздействие на опухолевые ткани через связывание с антигенами, обеспечивающими пролиферацию клеток или рост опухоли.

Ниже перечислены основные механизмы цитотоксического действия МкАТ, обусловленные их специфическим взаимодействием с антигенными рецепторами, экспрессируемыми на опухолевых клетках:

- активация компонентов комплемента;
- индукция антителозависимой цитотоксичности;
- индукция апоптоза;
- блокада рецепторов и прерывание внутриклеточных сигнальных цепей;
- блокада биоактивных молекул, важных для реализации злокачественного фенотипа клеток;
- индукция идиотип-антиидиотипического ответа;
- торможение роста опухоли за счет подавления образования в ней новых сосудов и другие.

В случае использования препаратов МкАТ для прямого воздействия на клетки мишени, МкАТ должны обладать высокой степенью специфичности и аффинности к антигенам, экспрессируемым на опухолевых клетках. Разработка любого лекарственного препарата МкАТ начинается с определения адекватной мишени, играющей патогенетически значимую роль в развитии и прогрессировании определенного заболевания. В частности, для препаратов МкАТ с противоопухолевой активностью чаще всего ведут поиск антигена, локализованно-

го на поверхности опухолевой клетки, либо рецепторов, участвующих в передаче активационных сигналов. Учитывая, что на мембране клетки присутствует значительное количество антигенных структур, наиболее сложной проблемой является выбор соответствующего антигена. При выборе антигена-мишени, следует учитывать следующие факторы:

- антиген должен принимать важное участие в развитии опухоли (например, обеспечивать трансдукцию пролиферативного сигнала);
- антиген должен экспрессироваться преимущественно (или только) на опухолевых клетках и отсутствовать (или быть слабо экспрессированным) на нормальных клетках;
- антиген должен экспрессироваться на клетках наиболее часто встречающихся опухолей (в ином случае, использование препарата МкАТ будет ограниченным, т.е. препарат будет предназначен только для небольшой популяции пациентов).

При разработке противоопухолевых препаратов МкАТ основные трудности связаны с гетерогенностью опухолевых антигенов и иммуногенностью МкАТ. Вследствие генетической нестабильности в клетках опухоли происходят частые мутации, что сопровождается изменением поверхностных антигенов. В связи с этим, разработанные высокоспецифичные к выбранной мишени МкАТ, как правило, не могут воздействовать на все опухолевые клетки и поэтому, к сожалению, не всегда будут клинически эффективными.

Таким образом, обладая строгой избирательной направленностью воздействия на звенья патогенетической цепи (рецепторы иммунокомпетентных или опухолевых клеток, эндогенные медиаторы иммунной системы или их растворимые рецепторы и антагонисты и т.д.), неконъюгированные препараты МкАТ оказывают терапевтический эффект за счет цитолитического действия или блокады факторов, стимулирующих рост опухолевых клеток в случае онкологических заболеваний или изменяют направленность и выраженность иммунных процессов в случае их использования при аутоиммунной патологии.

### Конъюгированные препараты МкАТ

В терапии злокачественных новообразований могут быть использованы препараты конъюгированных МкАТ, в которых антитела, специфичные к антигенам, экспрессируемым на опухолевых клетках, конъюгированы с радиоактивными изотопами, растительными или бактериальными токсинами или цитостатиками. Последние обуславливают терапевтический эффект препарата, тогда как специфические МкАТ осуществляют их адресную доставку к опухолевым клеткам. На рисунке 4 представлена схема формирования конъюгированных МкАТ и их взаимодействия с клеткой-мишенью.

Использование МкАТ, конъюгированных с изотопом, позволяет избирательно облучать опухолевые ткани, не оказывая существенного воздействия на окружающие нормальные ткани. Выбор изотопа зависит от степени пролиферативной активности опухолевых клеток, продолжительности полужизни изотопа, особенностей излучения (длина пробега частиц и т.д.). Изотопы  $^{131}\text{I}$  (йод) и  $^{90}\text{Y}$  (иттрий) являются  $\beta$ -излучателями, относятся к долгоживущим изотопам, вызывающим при воздействии на клетку летальные повреждения ДНК. Однако они способны также вызывать выраженные повреждения окружающих антигеннегативных, в том числе, нормальных, тканей. Изотопы  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{213}\text{Bi}$  (висмут) и  $^{211}\text{At}$  (астат) являются  $\alpha$ -излучателями, они имеют более короткий пробег (10–80 мкм, по сравнению с  $^{131}\text{I}$  и  $^{90}\text{Y}$ , которые имеют пробег 0,8 мм и 5 мм соответственно) и по-



этому в меньшей степени оказывают повреждающее действие на окружающие нормальные ткани.

При разработке радиоиммюноконъюгированных препаратов более целесообразным является использование МкАТ с коротким периодом полужизни, чаще всего для этих целей используют мышиные МкАТ. Указанные препараты более эффективны при лечении гематологических опухолей, таких как лимфомы, лейкозы, по сравнению с солидными опухолями. Это связано с тем, что опухолевые ткани плохо васкуляризованы, клетки солидных опухолей обладают более низкой чувствительностью к облучению, а также антигены, экспрессированные на клетках опухолевой ткани, как правило, неоднородны.

Для клинического применения разрешены два препарата радиоактивно меченных МкАТ – ибритумаб (Зевалин) и тозитумаб (Бекссар).

Ибритумаб (Зевалин) является мышиным МкАТ, специфичным к антигенам CD20, экспрессированным на В-лимфоцитах, в качестве изотопа использован  $^{90}\text{Y}$ . Зевалин зарегистрирован в 2002 г. для лечения рецидивов и рефрактерных форм фолликулярных лимфом. Клинические исследования показали, что ибритумаб был эффективен у 46% пациентов с В-клеточной неходжкинской лимфомой, резистентных к терапии ритуксимабом (химерные МкАТ, специфичные к CD20 В-лимфоцитов) [13].

Тозитумаб (Бекссар) является мышиным МкАТ, специфичным к CD20 В-лимфоцитов, конъюгированным с изотопом  $^{131}\text{I}$ . Препарат получил одобрение FDA в 2003 г. для лечения рецидивов фолликулярных лимфом.  $^{131}\text{I}$  распадается, высвобождая  $\beta$ - и  $\gamma$ -излучение с периодом полураспада 8 сут. Клинические исследования показали, что его эффективность отмечена в 71% случаев, включая полную регрессию у 38% больных резистентной В-клеточной лимфомой низкой степени злокачественности [14]. Предполагается, что более перспективным является сочетанное применение МкАТ, меченных изотопами, с цитостатиками или другими биотехнологическими препаратами.

Имеется опыт разработки конъюгированных препаратов МкАТ с использованием растительных и бактериальных токсинов, таких как рицин А, *Pseudomonas* экзотоксин и стафилококковый эндотоксин. Рицин А и *Pseudomonas* экзотоксин, доставленные непосредственно в опухолевые клетки специфическими МкАТ, блокируют синтез белка и вызывают гибель клетки. Стафилококковый эндотоксин проявляет активность как иммуномодулятор, вызывая активацию Т-лимфоцитов, стимулируя развитие противоопухолевого иммунитета.

Однако ограниченный опыт клинического применения конъюгированных препаратов МкАТ свидетельствовал не только о положительном эффекте применения исследуемых конъюгатов, но и об опасности развития осложнений, связанных с токсическими проявлениями таких препаратов [15–17].

В 2000 г. FDA (США) был зарегистрирован единственный препарат иммунотоксина – гемтузумаб **озогамицин (Милотарг)**, предназначенный для лечения злокачественных заболеваний (острого миелобластного лейкоза у пожилых лиц старше 60 лет). Милотарг представляет собой гуманизированные МкАТ, специфичные к антигену CD33, который экспрессирован на большинстве лейкоэмических клеток. МкАТ конъюгированы с токсином калихимицином. Однако препарат Милотарг компании «Pfizer» снят с производства и с октября 2010 г. отозван с фармацевтического рынка. Это вызвано

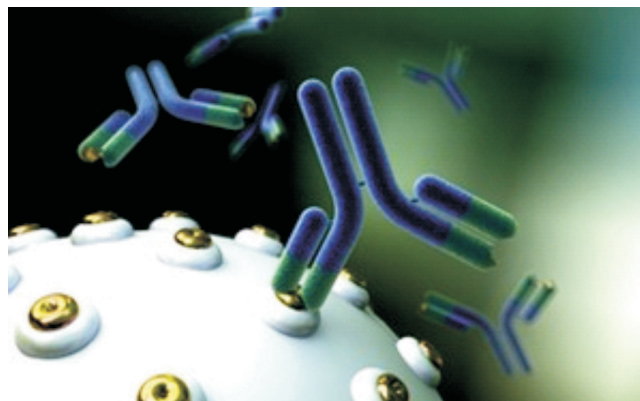


Рис. 3. Схема прямого воздействия МкАТ на целевые антигены, экспрессированные на клетке-мишени.

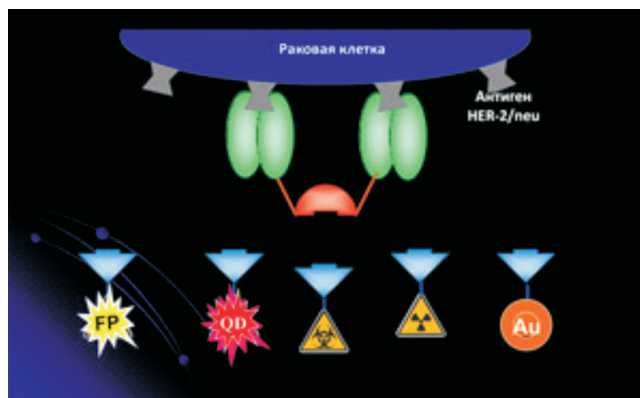


Рис. 4. Схема взаимодействия конъюгированных МкАТ с опухолевой клеткой.

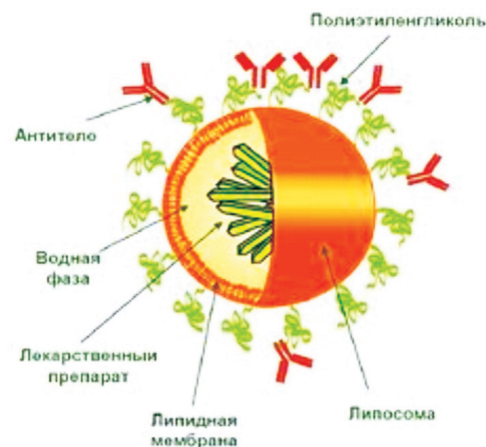


Рис. 5. Схема строения иммунолипосомального препарата.

тем, что по результатам исследования, ведущегося с 2004 г., не установлены статистически значимые различия в прогрессировании заболевания у пациентов, принимавших препарат наряду с химиотерапией, и не принимавших его. Кроме того, установлено, что прием препарата Милотарг осложняется тяжелыми нарушениями функции печени, в частности, сопровождается развитием веноокклюзионной болезни.

В качестве противоопухолевых средств в конъюгированных препаратах МкАТ могут быть использованы антрациклины, 5-фторуридин и его производные, алкалоиды, митомицин-С и др. [18–21].

При разработке подобных препаратов, одним из наиболее существенных является вопрос об обеспечении сохра-



нения конформации белковой молекулы МкАТ после присоединения противоопухолевого препарата, особенно в случае соединения его в участках, близко прилегающих к антигенраспознающим структурам иммуноглобулина.

Следует отметить, что при формировании комплекса активность противоопухолевого препарата также может измениться. Отдельные авторы указывают на снижение или повышение активности таких препаратов – снижение для вендесцина [22] и повышение для доксорубина [21].

Не менее важным моментом является обеспечение достаточной прочности связи МкАТ с соответствующим противоопухолевым препаратом, ее устойчивости в биологических жидкостях и возможности ферментативного расщепления этой связи после присоединения конъюгата к опухолевой клетке, последующего пиноцитоза и проникновения комплекса в лизосомы. Одним из оптимальных подходов является использование с этой целью амидной связи, в этом случае противоопухолевый компонент высвобождается из комплекса при воздействии лизосомальных амидаз или среды с низким значением pH.

Конъюгированные МкАТ могут оказывать более выраженный терапевтический эффект, чем неконъюгированные, но и осложнения при их применении наблюдаются чаще, что зависит от характера соединения, связанного с антителами.

В настоящее время продолжают исследования по разработке конъюгированных препаратов МкАТ, установлению показаний и схем их применения. Ни один лекарственный препарат МкАТ, конъюгированных с химиотерапевтическими препаратами, не зарегистрирован.

Для направленной доставки лекарственного препарата к опухолевой клетке или органу-мишени разрабатываются липосомальные препараты – иммунолипосомы, в которых лекарственное вещество заключено в липосому – небольшую везикулу, сформированную из разных типов липидов, фосфолипидов и/или сурфактанта. МкАТ, высокоспецифичные к опухолевому антигену, соединены с липосомой с помощью полиэтиленгликоля. Компоненты липосомы обычно организованы в виде двухслойной структуры, аналогично тому, как располагаются липиды в биологических мембранах. На рисунке 5 представлена схема строения иммунолипосомального препарата.

Общетоксическое действие лекарственного вещества, включенного в липосому, снижается, в то время как его эффективность повышается за счет непосредственной доставки к органу-мишени. Присоединение МкАТ к липосомам обеспечивает не только доставку лекарственного вещества к органу-мишени, но и непосредственное поступление в опухолевую клетку за счет пиноцитоза сформированного комплекса, состоящего из иммунолипосомы и антигена, экспрессированного на поверхности опухолевой клетки [23]. Снижение токсичности цитостатических препаратов, инкапсулированных в липосомы, зависит от фармакокинетических параметров таких препаратов. Величина клиренса липосомального препарата и стабильность липосом в биологических жидкостях зависит от липосомального носителя, физико-химических свойств лекарственного препарата, природы связи между ними и способности к проницаемости в ткани.

Исследованиями ряда авторов на различных опухолевых моделях показано, что липосомы диаметром 100–200 нм проходят через сосудистую стенку и накапливаются в ткани опухоли [24, 25].

Недостатком липосомальных лекарственных форм является быстрая опсонизация и захват липосом клетками ретикулоэндотелиальной системы (РЭС). Встраивание в липидный слой липосом полиэтиленгликоля позволяет избежать быстрого их захвата клетками РЭС, за счет повышения осмотического давления вокруг липосом, что препятствует их сближению с клетками РЭС.

МкАТ, которые используют для создания иммунолипосомального препарата, должны обладать низкой иммуногенностью, поэтому для этих целей могут быть использованы гуманизированные, полностью человеческие МкАТ или фрагменты антител (Fab- или F(ab)<sub>2</sub>-фрагменты), ответственные за специфическое связывание с антигеном.

Ряд авторов сообщают о препаратах иммунолипосом, которые могут быть перспективными при использовании в онкологии – МкАТ, конъюгированные с липосомами, специфичные к рецептору Her2/neo или рецептору трансферрина (CD71) [26], антигенам гистосовместимости класса II (HLA-DR) [27, 28], антигенам, экспрессированным на В-лимфоцитах (CD19) [29].

Перспективным является еще одно направление, при котором МкАТ используются для создания иммуномагнитного фильтра, «сорбента». Сущность метода состоит в том, что присоединенные к ферромагнитным микрочастицам МкАТ, достигают опухолевых клеток, специфически взаимодействуют с ними за счет соответствующих опухолеассоциированных антигенов. Далее, при воздействии магнитного поля, опухолевые клетки с ферромагнитными частицами извлекают, например, из опухоли или из костного мозга и иммуномагнитный сорбент освобождают от извлеченных клеток. С помощью такого сорбента можно высокоспецифично связывать и удалять клетки (например, злокачественные) или получать из костного мозга здоровые клетки – предшественники костномозгового кроветворения, которые могут использоваться для введения этому же больному в случае нарушения кроветворения. Наиболее перспективным такой способ использования МкАТ может быть при онкогематологических заболеваниях.

## Проблемы, связанные с проявлением нежелательной иммуногенности препаратов МкАТ

Несмотря на успешное применение лекарственных препаратов МкАТ при лечении онкологических, аутоиммунных, инфекционных и аллергических заболеваний, их клиническое использование в ряде случаев сопровождается развитием серьезных нежелательных явлений. В некоторых случаях при длительном применении препарата МкАТ возможно развитие неконтролируемой иммуносупрессии, что приводит к инфекционным осложнениям или активации опухолевого процесса, с другой стороны не исключена возможность чрезмерной активации компонентов иммунной системы, что угрожает развитием аутоиммунных процессов.

Одной из существенных проблем, связанных с клиническим использованием препаратов МкАТ, является возможность проявления их нежелательной иммуногенности, формирования у пациентов антител к МкАТ, что может быть причиной снижения или сведения до минимума клинической эффективности лекарственного препарата. Также возможно развитие таких серьезных побочных эффектов как инфузионные реакции, анафилаксия, реакции, обусловленные формированием иммунных комплексов, что в ряде случаев требует клинического вмешательства.

Для преодоления этой проблемы используются новые современные генно-инженерные технологии, позволяющие получать препараты МкАТ на основе иммуноглобулинов или их производных, имеющих минимальное присутствие аминокислотных последовательностей мышинового или иного происхождения (гуманизированные МкАТ) или характеризующихся их полным отсутствием (рекомбинантные МкАТ человека, в которых вариабельные домены и константный регион являются фрагментами иммуноглобулина человека).

При повторном введении модифицированных МкАТ частота формирования индуцированных антител снижается и по указанию отдельных авторов, в целом, составляет 74% в случае мышинных МкАТ, 46% – химерных и 4% – гуманизированных МкАТ [23].

В настоящее время для получения антител со 100% содержанием человеческого белка, внедряются технологии, базирующиеся на использовании трансгенных мышей. При иммунизации таких животных нужным антигеном наблюдается активация внедренных в организм мыши генов человеческого, а не мышинового иммуноглобулина. Гибридомы, созданные на основе immortalized спленоцитов трансгенных мышей, могут быть использованы для получения МкАТ, обладающих минимальной иммуногенностью. Использование такого подхода позволяет исключить или упростить отдельные этапы, связанные с конструированием препаратов на основе МкАТ, в частности, он позволяет избежать выполнения сложнейших манипуляций, связанных с химеризацией или гуманизацией мышинных иммуноглобулинов.

Указанная технология использована при разработке и получении лекарственного препарата панитумумаб – МкАТ к рецептору эпидермального фактора роста (ЭФР), который применяется при опухолевых процессах, сопровождающихся повышенной экспрессией рецепторов ЭФР на опухолевых клетках [12].

Результаты исследований свидетельствуют, что препараты гуманизированных и полностью человеческих МкАТ проявляют менее выраженную антигенную активность. Однако только результаты клинических исследований позволяют оценить их иммуногенность, поскольку результаты доклинических исследований не могут адекватно отразить способность МкАТ индуцировать развитие нежелательных иммунных реакций при их использовании у человека.

На частоту и выраженность развития иммунного ответа на МкАТ при их клиническом использовании влияют различные факторы, которые связаны с самим препаратом (структура МкАТ, наличие Т- или В-клеточных эпитопов), производственным процессом (условия формулирования, присутствие в препарате примесей, образование агрегатов и др.), особенностями заболевания, схемой применения препарата (например, введение 1–2 раза в случае антиинфекционных МкАТ или многократное введение), состоянием пациента (иммунореактивность, прием сопутствующих препаратов, влияющих на состояние иммунной системы и др.).

Антитела, которые формируются в ответ на введение лекарственного препарата МкАТ, могут быть направлены к различным эпитопам молекулы, локализованным на вариабельных или константных регионах иммуноглобулина МкАТ. У химерных МкАТ, имеющих гетерологичные последовательности грызунов, указанные участки распознаются как чужеродные и являются причиной формирования гуморального иммунного ответа. В случае гуманизированных

или полностью человеческих МкАТ иммунный ответ проявляется формированием, в основном, антиидиотипических антител, специфичных к гипервариабельной последовательности регионов, определяющих комплементарность связывания с антигеном, и которые с большой долей вероятности могут привести к снижению эффективности терапии МкАТ. Антитела могут быть также направлены против константного региона полностью человеческих или гуманизированных МкАТ, что может повлиять на эффекторную функцию антител с возможными последствиями для клинического ответа на терапию МкАТ. Изменение профиля гликозилирования, который в основном зависит от используемой системы экспрессии, может снизить или увеличить иммуногенные свойства молекулы иммуноглобулинов.

С целью снижения иммуногенности химерных и гуманизированных МкАТ предпринимаются попытки присоединения к ним полиэтиленгликоля или низкомолекулярного декстрана. Пегилирование МкАТ или их фрагментов проводят также для улучшения переносимости и повышения периода их полужизни, что в целом повышает эффективность клинического использования таких препаратов МкАТ.

Снижение степени иммунного ответа, направленного против МкАТ, возможно при использовании антител прима-тов.

Следует отметить, что особое внимание должно быть уделено препаратам МкАТ следующего поколения – биспецифическим МкАТ, препаратам на основе фрагментов МкАТ и другим формам антител, в связи с возможностью высвобождения ранее скрытых антигенных детерминант у таких модифицированных молекул МкАТ.

Некоторые из основных побочных эффектов при использовании препаратов МкАТ связаны с инициацией общего воспалительного ответа. Рецептор на Fc-фрагменте иммуноглобулина связывается с белками системы комплемента и вызывает неспецифическое воспаление. Одним из подходов к решению этой проблемы является возможность разработки препаратов на основе только Fab-фрагментов антител, но такие препараты очень быстро выводятся из организма, поэтому данный вопрос требует особого рассмотрения в зависимости от назначения препарата.

Возможность конструирования иммуноглобулинов МкАТ позволяет, например, ликвидировать рецепторы, запускающие каскад в системе комплемента, за счет направленного мутагенеза, сохраняя при этом Fc-фрагмент иммуноглобулина, что значительно увеличивает время полужизни антитела *in vivo* без инициации развития воспалительной реакции.

### **Перспективы разработки лекарственных препаратов МкАТ на основе модифицированных антител**

Целый ряд биотехнологических компаний работает над созданием технологий получения препаратов МкАТ нового поколения, объединяющих в себе преимущества полноразмерных антител и низкомолекулярных соединений, обладающих высокой специфичностью и низкой токсичностью, возможностью воздействовать на объекты, нераспознаваемые современными препаратами МкАТ, в том числе, на активные центры ферментов и рецепторов.

Разрабатывают препараты на основе малых фрагментов молекулы МкАТ. С этой целью выделяют участок ДНК, кодирующий единственный вариабельный регион молекулы иммуноглобулина – так называемое нанотело. Множество слегка различающихся нанотел проверяют, чтобы выделить наиболее пригодные для медицинского применения

Гены нанотел могут быть соединены с генами других нанотел или другими веществами, с целью создания новых лекарственных средств. На рисунке 6 представлена схема строения реконструированных МкАТ.

Благодаря современным достижениям научного прогресса стало возможным изменение размера антител, увеличение их аффинности, снижение иммуногенности и повышение специфической активности, оптимизация фармакокинетических и эффекторных функций. Возможно создание препаратов на основе составных рекомбинантных белков (белков слияния/фьюжн белков), включающих фрагменты иммуноглобулинов; би- и триспецифических антител; препаратов антител, включающих цитокины, ферменты (антитела, в этом случае, выполняют «адресную доставку» другого нужного компонента) [30, 31].

Известно, что одна область молекулы антител (Fab) определяет ее антигенную специфичность, а другая (Fc) осуществляет эффекторные функции: связывание с рецепторами, которые экспрессированы на иммунных клетках (например, фагоцитах), и связывание с первым компонентом (C1q) системы комплемента для инициации классического пути каскада комплемента. Иммуноглобулины всех изотипов бифункциональны, т.е. иммуноглобулин любого типа распознает и связывает антиген, а затем усиливает киллинг и/или удаление иммунных комплексов, сформированных в результате активации эффекторных механизмов. Изменяя структуру молекулы белка иммуноглобулина или отдельных ее регионов, получают белки и полипептиды с заданными свойствами.

Для повышения эффективности применения лекарственных препаратов МкАТ основные усилия, прежде всего, должны быть направлены на повышение их биологической активности. В этом плане перспективным является разработка биспецифических и триспецифических антител.

Биспецифические антитела содержат две антигенсвязывающие области, обладающие высокой специфичностью по отношению к двум различным антигенам, например, антитела, у которых один гипервариабельный домен связывается с опухолеассоциированным антигеном, другой – с Т-клеточным рецептором. Биспецифические антитела могут быть получены в виде полноразмерных антител или антительных фрагментов (например,  $F(ab')_2$  биспецифических фрагментов). Триспецифические МкАТ способны взаимодействовать с тремя различными антигенами, например, с антигеном на опухолевой клетке, с рецептором лимфоцита и с антигенпрезентирующей клеткой, за счет связывания константного домена МкАТ с Fc-рецептором клетки. При введении таких МкАТ гибель опухолевых клеток осуществляется не только за счет проявления эффекторных функций, но и включения механизмов стимуляции противоопухолевого иммунитета.

Разрабатываются одноцепочечные полноразмерные антитела, различные укороченные антитела, такие как  $F(ab)-$  и  $F(ab')_2$ -фрагменты, scFv-фрагменты (одноцепочечные миниантитела), однодоменные (нано-) антитела и др.

В настоящее время используется американская система наименований препаратов полноразмерных и модифицированных МкАТ – US Adopted Names (USAN) ([www.ama-assn.org](http://www.ama-assn.org)), приведенная в таблице 2.

Современные достижения молекулярной биологии и генной инженерии позволяют конструировать модифицированные иммуноглобулины и получать их в масштабе производства с использованием метода рекомбинантной ДНК. Так, каркасные участки иммуноглобулина могут быть изме-



Рис. 6. Схема строения реконструированных МкАТ.

нены относительно нативных последовательностей за счет замещения определенных аминокислот, добавления концевых или промежуточных аминокислот, делеции и т.д. Модификация генов может быть выполнена с помощью направленного мутагенеза.

Возможно получение полипептидных фрагментов иммуноглобулина как части молекулы антитела, обладающих одной или несколькими нужными функциями (например, связывание антигена, фиксация комплемента и др.). Полипептидные фрагменты получают с помощью протеолитического расщепления молекул иммуноглобулина с помощью известных методов или путем направленного мутагенеза стоп-кодонов в целевые положения вектора – после  $C_H1$  домена для получения Fab-фрагментов или ниже шарнирного участка для получения  $F(ab')_2$ -фрагмента иммуноглобулина. Стоп-кодон или терминаторный кодон (единица генетического кода, тройка нуклеотидных остатков в ДНК) – структура, кодирующая прекращение синтеза полипептидной цепи.

Возможно создание новых гибридных белков, обладающих нужными свойствами путем соединения отдельных участков генов, кодирующих различные структуры иммуноглобулина, ответственные за реализацию различных функций.

Fv-фрагмент иммуноглобулина представляет собой димер одного вариабельного домена тяжелой цепи и одного вариабельного домена легкой цепи ( $V_H$  и  $V_L$  домены), которые находятся в тесной нековалентной взаимосвязи. Его конфигурация такова, что три гипервариабельных участка каждого вариабельного домена взаимодействуют с образованием антигенсвязывающей области на поверхности  $V_H-V_L$  димера. Все вместе шесть гипервариабельных участков обеспечивают специфичность связывания антитела с антигеном.

Одноцепочечные Fv-фрагменты или scFv-фрагменты антител включают  $V_H$  и  $V_L$  домены антител, при этом указанные домены находятся в одной полипептидной цепи. Между  $V_H$  и  $V_L$  доменами имеется полипептидный линкер, который обеспечивает формирование необходимой для связывания антигена конфигурации scFv. Указанные фрагменты не требуют особых усилий при клонировании и экспрессии, однако они характеризуются более низкой стабильностью, в некоторых случаях низкой аффинностью и коротким периодом полужизни по сравнению с более крупными фрагментами иммуноглобулина.

Попытка создания лекарственных препаратов на основе рекомбинантных одноцепочечных антител в ряде случаев связана с необходимостью сохранения специфических функций полноразмерных антител и ограничения риска их клинического применения.

В ряде случаев механизмы, лежащие в основе терапевтического действия лекарственных препаратов МкАТ, в частности, иммуносупрессивное действие на иммунную систему с целью подавления развития иммунопатологических реакций, являются и причиной развития побочных эффектов. Наиболее часто это проявляется развитием инфекций, а также опухолевых заболеваний на фоне применения препаратов МкАТ.



**Таблица 2. Номенклатура лекарственных препаратов антител и их фрагментов по USAN (US Adopted Names; [www.ama-assn.org](http://www.ama-assn.org))**

| Приставка                                                | Вид заболевания или мишень                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Источник происхождения антитела                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Суффикс    | Примеры                                                                             |
|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| Подходящий слог(и), отличающийся от ранее использованных | <b>Vir</b> – вирусное<br><b>Bac</b> – бактериальное<br><b>Lim</b> – иммунная система<br><b>les</b> – инфекционное<br><b>cir</b> – сердечно-сосудистое<br><b>fung</b> – грибковое<br><b>ner</b> – нервная система<br><b>kin</b> – интерлейкины<br><b>mul</b> – костно-мышечная система<br><b>os</b> – кости<br><b>toxa</b> – токсины<br><b>anibi</b> – ангиогенез<br><b>Опухоли</b><br><b>Col</b> – толстой кишки<br><b>Mel</b> – меланома<br><b>Mar</b> – молочной железы<br><b>got</b> – семенника<br><b>gov</b> – яичника<br><b>pro</b> – простаты<br><b>tum</b> – разные | <b>u</b> – human (человек)<br><b>o</b> – mouse (мышь)<br><b>a</b> – rat (крыса)<br><b>e</b> – hamster (хотьяк)<br><b>i</b> – primate (примат)<br><b>axo</b> – крыса/мышь<br><br><b>xi</b> – chimera (химерное)<br><b>zu</b> – humanized (гуманизированное)<br><b>xizu</b> – комбинация химерных и гуманизированных цепей | <b>mab</b> |                                                                                     |
| Tras                                                     | Tu                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | zu                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | mab        | <b>Trastuzumab</b> (Herceptin®) – гуманизированное МкАТ против опухолей             |
| Ab                                                       | Ci                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | xi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | mab        | <b>Abciximab</b> (ReoPro®) – химерное МкАТ для профилактики тромбоза артерий        |
| R                                                        | Anibi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | zu                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | mab        | <b>Ranibizumab</b> (Lucentis®) – гуманизированное МкАТ для блокирования ангиогенеза |

Для выбора нового наименования необходимо:

- выбрать подходящий слог(и), отличающийся от ранее использованных, и поставить его в начале слова;
- затем добавить слоги в следующем порядке; класс заболевания (вид опухоли) или мишень; источник происхождения; суффикс – **mab**;
- для облегчения произношения последняя согласная в слове, обозначающем мишень, может быть опущена.

Так, в настоящее время при системных заболеваниях соединительной ткани аутоиммунной природы, в частности ревматоидном артрите (РА), болезни Бехтерева, псориазе, псориатическом артрите, болезни Крона, язвенном колите успешно применяются препараты МкАТ, блокирующие проявления биологической активности фактора некроза опухолей альфа (ФНО- $\alpha$ ), такие как инфликсимаб, адалимумаб, этанерсепт [6, 7, 32–34].

Лечебный эффект указанных препаратов МкАТ (антагонистов ФНО- $\alpha$ ) обусловлен подавлением активности провоспалительных цитокинов путем воздействия на сам цитокин – ФНО- $\alpha$ , его рецепторы и другие функционально связанные с ним цитокины.

Известно, что провоспалительный цитокин ФНО- $\alpha$  играет ведущую роль в развитии самых разнообразных проявлений, характерных для многих воспалительных заболеваний человека. Установлено, что именно неконтролируемая гиперпродукция ФНО- $\alpha$  лежит в основе хронизации иммунопатологического процесса и костной деструкции при ревматоидном артрите и ряде других системных аутоиммунных заболеваний.

Разработка принципиально новой группы лекарственных средств на основе МкАТ, направленных против провоспалительных цитокинов, является одним из наиболее ярких достижений в терапии воспалительных ревматических заболеваний. Первым препаратом МкАТ, который начал активно применяться в терапии РА, является инфликсимаб – химерные МкАТ, специфичные к ФНО- $\alpha$ .

Несмотря на успешность клинического применения указанных препаратов, результаты пострегистрационных исследований и наблюдений свидетельствуют о развитии серьезных побочных эффектов при применении препаратов

МкАТ – блокаторов ФНО- $\alpha$ . В частности, установлено, что терапия данными препаратами может приводить к реактивации латентного туберкулеза, развитию инфекций, фармакогенной волчанки, повышению вероятности возникновения лимфом, ухудшению симптоматики ишемической болезни сердца. Риск развития нежелательных побочных эффектов обусловлен блокированием биологического действия ФНО- $\alpha$ , которое связано с важными природными функциями данного цитокина в развитии иммунного ответа [35–41].

В 2009 г., на основании результатов пострегистрационных исследований и данных мета-анализа ранее проведенных клинических исследований, в инструкцию по применению препаратов, ингибирующих активность ФНО- $\alpha$  (инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб, голимумаб, этанерсепт), внесена дополнительная информация о риске развития раковых заболеваний (в половине случаев – лимфомы) у детей и подростков, получающих указанные препараты для лечения ювенильного РА и болезни Крона.

В связи с выше изложенным, существует необходимость в разработке новых препаратов – блокаторов ФНО- $\alpha$ , которые могли бы подавлять его действие преимущественно в очаге воспаления, сохраняя в целом защитные функции указанного провоспалительного цитокина на уровне всего организма.

Проведены экспериментальные исследования по созданию генетической конструкции, кодирующей одноцепочечное антитело, которое было экспрессировано в бактериальной системе [42]. Для получения белкового блокатора ФНО- $\alpha$  человека гены вариабельных участков тяжелой и легкой цепей были соединены в генетическую конструкцию. Полученный препарат – одноцепочечное антитело не только хорошо связывал ФНО- $\alpha$ , но и эффективно нейтрализовал его дей-

ствие в цитотоксическом тесте. Успешная попытка создания такого блокирующего агента служит доказательством возможности направленной блокировки активности ФНО- $\alpha$  и разработки нового поколения лекарственных препаратов с заданной характеристикой биологического действия.

Разработка лекарственных препаратов МкАТ с включением радиоактивных изотопов, предназначенных для диагностических (*in vivo*) и терапевтических целей, также предполагает модификацию физико-химических свойств препарата и исключение эффекторных функций иммуноглобулинов. Препараты на основе модифицированных МкАТ, в частности, фрагментов антител позволяют повышать клиническую эффективность таких препаратов за счет изменения периода полувыведения их из организма. Время полувыведения белков через почки определяется размером молекулы, порог клубочковой фильтрации определяется размером молекул в 60–65 кДа. Молекулы IgG (м.м. 150 кДа) не выводятся через почки. При этом scFv-фрагменты (м.м. около 30 кДа) имеют период полувыведения равный 0,5–2 ч, оптимальным является период полувыведения Fab-фрагментов (м.м. 48 кДа), соответствующий 14–15,5 ч.

На эффективность препарата, схему назначения оказывают влияние фармакокинетические параметры. В зависимости от назначения МкАТ длительность периода полужизни МкАТ может быть увеличена (для препаратов, непосредственно воздействующих на мишень) либо снижена (в случае использования МкАТ, меченных радиоизотопами). Одним из способов, позволяющих изменять фармакокинетические параметры лекарственных препаратов МкАТ, является сайт-специфическая модификация Fc-фрагмента.

Замена ключевых аминокислот в Fc-фрагменте иммуноглобулина, ответственных за взаимодействие с FcRn-рецептором, позволяет изменить фармакокинетические свойства модифицированного препарата МкАТ. Модифицированные МкАТ, характеризующиеся повышенной способностью к связыванию с FcRn при pH 6,0, имеют более длительный период полужизни, и, наоборот, – со сниженной способностью имеют короткий период полужизни. Важно отметить, что замена аминокислотных остатков в участках IgG, взаимодействующих с FcRn, в большинстве случаев не оказывает влияния на эффекторные функции антител.

Благодаря современным научным достижениям, стало возможным оптимизировать эффекторные функции МкАТ, в зависимости от назначения, с целью повышения эффективности их клинического применения. Примером могут служить препараты ранибизумаба (Лувентис) и панитумумаба (Вектибикс).

Ранибизумаб – препарат, действующее вещество которого представлено F(ab')<sub>2</sub>-фрагментом МкАТ к фактору роста эндотелия сосудов. Отсутствие в препарате константных доменов иммуноглобулина исключает связывание его с Cq1 компонентом комплемента и активацию классического пути системы комплемента, а также связывание с клетками эффекторами клеточного иммунитета.

Панитумумаб – препарат, действующее вещество которого представлено МкАТ, специфичными к рецептору эпидермального фактора роста (ЭФР). В данном случае МкАТ являются иммуноглобулином класса G<sub>2</sub>, переключение субкласса IgG<sub>1</sub> на IgG<sub>2</sub> способствовало тому, что препарат не способен активировать механизмы АЗКЦ, поскольку Fc-фрагмент IgG<sub>2</sub> не проявляет родства к рецепторам Fc $\gamma$ R, экспрессированным на клетках-киллерах.

Важную роль в реализации эффекторных функций иммуноглобулина играет углеводный компонент, который составляет

около 3% общей массы молекулы IgG. Углеводный компонент IgG представлен в виде двух олигосахаридных цепей, локализованных в C<sub>H</sub>2 домене иммуноглобулина. Состав углеводов проявляет высокую видовую специфичность и варьирует внутри вида. Изменение профиля гликозилирования, которое может зависеть от используемой системы экспрессии, выбранного клона и системы выделения, имеет существенное значение в индукции иммунного ответа на лекарственный препарат, развитии аллергических реакций и скорости выведения антител из организма. Олигосахаридные цепи IgG имеют приблизительно одинаковый набор основных моносахаридов: галактоза, манноза, N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин, фукоза и сиаловая кислота.

Известно, что реализация эффекторных функций МкАТ является следствием связывания Fc-фрагмента иммуноглобулина с Fc $\gamma$ R-рецепторами, существенную роль в этом взаимодействии играют олигосахариды константного домена иммуноглобулина. Установлено, что при удалении фукозы из углеводного компонента более чем в 50 раз повышается уровень проявления АЗКЦ [43]. Отдельные авторы указывают на то, что снижение эффективности препаратов МкАТ при клиническом использовании, по сравнению с испытаниями их в условиях *in vitro*, связано с воздействием фукозилированных иммуноглобулинов, присутствующих в плазме крови, вызывающих подавление цитотоксического эффекта лекарственного препарата МкАТ [44].

Разработка препаратов на основе нефукозилированных МкАТ позволяет получить лекарственные препараты, проявляющие свою эффективность при использовании меньших доз. Это связано с тем, что нефукозилированные МкАТ, обладая большей аффинностью к Fc $\gamma$ R рецепторам по сравнению с фукозилированными, проявляют большую устойчивость к ингибирующему действию IgG, присутствующих в плазме крови. Тем не менее указывается на то обстоятельство, что, по крайней мере, часть антител должны быть фукозилированными, это повышает активность АЗКЦ.

В качестве системы экспрессии для получения лекарственных препаратов МкАТ, как правило, используются клетки CHO и миелоидные клетки мыши NSO и SP2/0. Произведенные препараты МкАТ имеют фукозилированный углеводный компонент, поэтому проявления АЗКЦ снижены.

В последние годы были сконструированы клеточные линии CHO с нокаутированным геном фермента FUT8 ( $\alpha$ -1,6 фукозилтрансфераза), что дает возможность получения нефукозилированных лекарственных препаратов МкАТ, интенсивность проявления АЗКЦ у которых выше, по сравнению с фукозилированными антителами.

В настоящее время большое внимание уделяется вопросам конструирования МкАТ с модификацией углеводного компонента, поскольку это позволяет оптимизировать проявления эффекторных функций антител и снизить риск высокой иммуногенности МкАТ.

Использование трансгенных животных также снижает риск высокой иммуногенности лекарственных препаратов МкАТ, обусловленный ксеногенными посттрансляционными модификациями, главным образом, особенностями гликозилирования молекулы иммуноглобулина.

Следует учитывать, что при разработке модифицированных форм иммуноглобулинов, в частности, при изменении аминокислотной последовательности с целью увеличения аффинности антител, могут наблюдаться нежелательные изменения свойств модифицированного белка, например, изменение специфичности, стабильности, периода полу-

жизни, повышение иммуногенности и др. В связи с этим все физико-химические, биологические свойства модифицированных форм МкАТ должны быть тщательно оценены.

### Заключение

Несмотря на широкое и успешное применение лекарственных препаратов МкАТ при тяжелых хронически протекающих заболеваниях, одной из существенных проблем, связанных с их клиническим использованием, является проявление нежелательной иммуногенности, повышение риска развития онкологических и, инфекционных заболеваний. Результатом проявления иммуногенности является развитие таких побочных эффектов, как инфузионные реакции, анафилаксия, снижение клинической эффективности лекарственного препарата и др. Побочные эффекты при применении лекарственных препаратов МкАТ, проявляемые в виде инфузионных реакций, наиболее часто наблюдаются при применении химерных МкАТ, реже – гуманизированных и с наименьшей частотой наблюдаются при применении МкАТ на основе только иммуноглобулина человека. Это обусловлено тем, что причиной развития инфузионных реакций является развитие иммунного ответа на чужеродные аминокислотные последовательности в структуре белковой молекулы лекарственных препаратов МкАТ. Гуманизированные и рекомбинантные человеческие МкАТ проявляют менее выраженную антигенную активность, однако только результаты клинических исследований позволяют оценить их иммуногенность.

Развитие технологий получения рекомбинантной (искусственно созданной) ДНК, создание комбинаторных библиотек генов, использование методов компьютерного моделирования белковых молекул сделало возможным получение разнообразных, как полноразмерных, так и модифицированных форм МкАТ. Рекомбинантные технологии позволяют путем внесения изменений в аминокислотную последовательность и особенности гликозилирования иммуноглобулинов МкАТ изменять их физико-химические и биологические свойства, в том числе, аффинность, эффекторные функции, иммуногенность и др. Использование современных достижений генно-инженерных технологий позволяет не только модифицировать свойства антител, но и разрабатывать новые препараты модифицированных антител с заданной специфичностью к самым разнообразным антигенам.

### Литература:

- Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256: 495–7 [classical article]. *Biotechnology* 1992; (24): 524–6.
- Ярилин АА. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010.
- Dillman R. Antibody therapy. Principles of cancer biotherapy. Ed. by R. Oldham, London: Kluwer Academic Publ.; 1998.
- Roopenian DC, Akilesh S. FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. *Nat Rev Immunol* 2007; 7(9): 715–25.
- Goebel NA, Babbey CM, Datta-Mannan A, Witcher DR, Wroblewski VJ, Dunn KW. Neonatal Fc Receptor mediates internalization of Fc in transfected human endothelial cells. *Mol Biol Cell* 2008; 19(12): 5490–505.
- Насонов ЕЛ, Каратеев АЕ, Клюкина НГ. Фармакотерапия. В кн.: Насонов ЕЛ, Насонова ВА. Ревматология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008.
- Elliott MJ, Maini RN, Feldmann M, Long-Fox A, Charles P, Katsikis P, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with chimeric monoclonal antibodies to tumor necrosis factor alpha. *Arthritis Rheum*. 1993; 36(12): 1681–90.
- Hanauer SB, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Fedorak RN, Lukas M, MacIntosh D, et al. Human anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody (adalimumab) in Crohn's disease: the CLASSIC-I trial. *Gastroenterology* 2006; 130(2): 323–3; quiz 591.
- Keystone EC. Safety of biologic therapies – an update. *J Rheumatol. Suppl* 2005; 74: 8–12.
- Markham A, Lamb HM. Infliximab: a review of its use in the management of rheumatoid arthritis. *Drugs* 2000; 59(6): 1341–59.
- Моисеенко ВМ. Возможности моноклональных антител в лечении злокачественных опухолей. *Практическая онкология* 2002; 3(4): 253–61.
- Guthel J. The promise of monoclonal antibodies for the therapy of cancer. *Critical rev. Oncol. Hematology* 2001; (38): 1–2.

- Witzig TE, Gordon LI, Cabanillas F, Czuczman MS, Emmanouilides C, Joyce R, et al. Randomized controlled trial of Yttrium-90-labelled Ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy versus rituximab immunotherapy for patients with relapsed or refractory low grade, follicular or transformed B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 2002; 20(10): 2453–63.
- Kaminski MS, Zelenetz AD, Press OW, Saleh M, Leonard J, Fehrenbacher L, et al. Pivotal study of Iodine 131 tositumomab for chemotherapy refractory low-grade or transformed low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol*. 2001; 19(19): 3918–28.
- Oratz R, Speyer JL, Wernz JC, Hochster H, Meyers M, Mischak R, et al. Antimelanoma monoclonal antibody-ricin A chain immunoconjugate (XMMME-001-RTA) plus cyclophosphamide in the treatment of metastatic malignant melanoma: results of a phase II trial. *J. Biol. Response Mod*. 1990; 9(4): 345–54.
- Lynch TJ Jr, Lambert JM, Coral F, Shefner J, Wen P, Blattler WA, et al. Immunotoxin therapy of small-cell lung cancer: a phase I study of N901-blocked ricin. *J. Clin. Oncol*. 1997; 15(2): 723–34.
- LeMaistre CF, Rosen S, Frankel A, Kornfeld S, Saria E, Meneghetti C. Phase I trial of H65-RTA immunoconjugate in patients with cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 1991; 78(5): 1173–82.
- Dillman RO, Johnson DE, Ogden J, Beidler D. Significance of antigen, drug, and tumor cell targets in the preclinical evaluation of doxorubicin, daunorubicin, methotrexate, and mitomycin-C monoclonal antibody immunoconjugates. *Mol. Biother*. 1989; 1(5): 250–5.
- Dillman RO. Antibodies as cytotoxic therapy. *J. Clin. Oncol*. 1994; 12: 1497–515.
- Tolcher AW, Sugarman S, Gelmon KA, Cohen R, Saleh M, Isaacs C, et al. Randomized phase II study of BR96-doxorubicin conjugate in patients with metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol*. 1999; 17(2): 478–84.
- Stan AC, Radu DL, Casares S, Bona CA, Brumeau TD. Antineoplastic efficacy of doxorubicin enzymatically assembled on galactose residues of monoclonal antibody specific for the carcinoembryonic antigen. *Cancer* 1999; 59(1): 115–21.
- Baldwin RW. Selective cytotoxicity against human tumour cells by a vindesine-monomoclonal antibody conjugate. *Br. J. Cancer* 1983; 47: 43–9.
- Барышников АО, Оборотов НА. Иммунолипосомы – новое средство доставки лекарственных препаратов. *Современная онкология* 2001; 3(2): 3–7.
- Rosenecker J, Zhang W, Hong K, Lausier J, Geppetti P, Yoshihara S, Papahadjopoulos D, et al. Increased liposome extravasation in selected tissues: effect of substance P. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1996; 93(14): 7236–41.
- Kong G, Anyarambhatla G, Petros WP, Braun RD, et al. Efficacy of liposomes and hyperthermia in a human tumor xenograft model: importance of triggered drug release. *Cancer Res*. 2000; 60(24): 6950–7.
- Papahadjopoulos D, Kilpotin DB, Park JW, Hong K, Shao Yi, Shalaby R, et al. Targeting of drugs to solid tumors using anti-HER2 immunoconjugates. *J. Liposome Research* 1998; 8(4): 425–42.
- Dufresne I, Desormeaux A, Bestman-Smith J, Gourde P, Tremblay MJ, Bergeron MG. Targeting lymph nodes with liposomes bearing anti-HLA-DR Fab' fragments. *Biochim. Biophys. Acta* 1999; 1421(2): 284–94.
- Bestman-Smith J, Gourde P, Desormeaux A, et al. Sterically stabilized liposomes bearing anti-HLA-DR antibodies for targeting the primary cellular reservoirs of HIV-1. *Biochim. Biophys. Acta* 2000; 1468(1–2): 161–74.
- Lopes de Menezes DE, Pilarski LM, Belch AR, Allen TM. Selective targeting of immunoliposomal doxorubicin against human multiple myeloma in vitro and ex vivo. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1466(1–2): 205–20.
- Деев СМ, Лебедево ЕМ. Современные технологии создания неспиродных антител для клинического применения. *Acta Naturae* 2001; (1): 32–50.
- Альтшулер ЕП, Серебряная ДВ, Катруха АГ. Получение рекомбинантных антител и способы увеличения их аффинности. *Успехи биологической химии* 2010; 50: 203–58.
- Насонов ЕЛ. Перспективы фармакотерапии воспалительных ревматических заболеваний: моноклональные антитела к фактору некроза опухоли-альфа. *Русский медицинский журнал* 2001; 9(7–8): 280–5.
- Maini RN, Breedveld FC, Kalden JR, Smolen JS, Davis D, Macfarlane JD, et al. Therapeutic efficacy of multiple intravenous infusions of anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody combined with low-dose weekly methotrexate in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1998; 41(9): 1552–63.
- Moreland LW, Baumgartner SW, Schiff MH, Tindall EA, Fleischmann RM, Weaver AL, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with a recombinant human tumor necrosis factor receptor (p75)-Fc fusion protein. *N. Engl. J. Med*. 1997; 337(3): 141–7.
- Dixon WG, Symmons DP, Lunt M. Serious infections following anti-tumor necrosis factor  $\alpha$  therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum*. 2007; 56: 2896–904.
- Bongartz T, Sutton AJ, Sweeting MJ, et al. Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies. *JAMA* 2006; 295: 2275–85.
- Schiff M, van de Putte LB, Breedveld FC, Kupper H, Fischkoff S, Chartash E. Rates of infection in adalimumab rheumatoid arthritis pivotal clinical trials. *Ann. Rheum. Dis*. 2003; 62(suppl. 1): 184.
- Schneeweis S, Setoguchi S, Weinblatt M, Katz JN, Avorn J, Sax PE, et al. Anti-tumor necrosis factor alpha therapy and the risk of serious bacterial infections in elderly patients with rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum*. 2007; 56(6): 1754–64.
- Wolfe F, Michaud K. Lymphoma in rheumatoid arthritis: the effect of methotrexate and anti-tumor necrosis factor therapy in 18,572 patients. *Arthritis Rheum*. 2004; 50(6): 1740–51.
- Watson KD, Dixon WG, Hyrich KL, Lunt M, Symmons DP, Silman AJ. Influence of anti-TNF therapy and previous malignancy on cancer incidence in patients with rheumatoid arthritis: results from the BSR biologics register. *Ann. Rheum. Dis*. 2006; 65: 512.
- Chung ES, Packer M, Lo KH, Fasanmade AA, Willerson JT. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alpha, in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the anti-TNF Therapy against congestive heart failure (ATTACH) trial. *Circulation* 2003; 107(25): 3133–40.
- Ефимов ГА, Вахрушева ОА, Сазыкин АО, Муфазалов ИА, Круглов АА, Кураш ДВ и др. Рекомбинантные одноцепочечные антитела, блокирующие биологическую активность фактора некроза опухоли человека. *Российский иммунологический журнал* 2009; 3(12): 23–9.



43. Shields RL, Lai J, Keck R, O'Connell LY, Hong K, Meng YG, et al. Lack of fucose on human IgG1 N-linked oligosaccharide improves binding to human FcγRIII and antibody-dependent cellular toxicity. *J. Biol. Chem.* 2002; 277(30): 26733–40.
44. Preithner S, Elm S, Lippold S, Locher M, Wolf A, da Silva AJ, et al. High concentrations of therapeutic IgG1 antibodies are needed to compensate for inhibition of antibody-dependent cellular cytotoxicity by excess endogenous immunoglobulin G. *Mol. Immunol.* 2006; 43(8): 1183–93.

## References

1. Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256: 495–7 [classical article]. *Biotechnology* 1992; 24: 524–6.
2. Yarin AA. *Immunology*. Moscow: GEOTAR-Media; 2010 (in Russian).
3. Dillman R. *Antibody therapy. Principles of cancer biotechnology*. Ed. by R. Oldham, London: Kluwer Academic Publishers.; 1998.
4. Roopenian DC, Akilesh S. FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. *Nat Rev Immunol.* 2007; 7(9): 715–25.
5. Goebel NA, Babbey CM, Datta-Mannan A, Witcher DR, Wroblewski VJ, Dunn KW. Neonatal Fc Receptor mediates internalization of Fc in transfected human endothelial cells. *Mol Biol Cell* 2008; 19(12): 5490–505.
6. Насонов ЕЛ, Каратеев АЕ, Клюкина НГ. Фармакотерапия. В кн.: Насонов ЕЛ, Насонова ВА. Ревматология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008.
7. Elliott MJ, Maini RN, Feldmann M, Long-Fox A, Charles P, Katsikis P, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with chimeric monoclonal antibodies to tumor necrosis factor alpha. *Arthritis Rheum.* 1993; 36(12): 1681–90.
8. Hanauer SB, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Fedorak RN, Lukas M, MacIntosh D, et al. Human anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody (adalimumab) in Crohn's disease: the CLASSIC-I trial. *Gastroenterology* 2006; 130(2): 323–3; quiz 591.
9. Keystone EC. Safety of biologic therapies – an update. *J. Rheumatol. Suppl* 2005; 74: 8–12.
10. Markham A, Lamb HM. Infliximab: a review of its use in the management of rheumatoid arthritis. *Drugs* 2000; 59(6): 1341–59.
11. Moiseenko VM. Features of monoclonal antibodies in the treatment of malignant tumors. *Prakticheskaya onkologiya* 2002; 3(4): 253–61 (in Russian).
12. Guthrie J. The Promise of Monoclonal Antibodies for the Therapy of Cancer. *Crit Rev. Oncol. Hematology* 2001; 38: 1–2.
13. Witzig TE, Gordon LI, Cabanillas F, Czuczman MS, Emmanouilides C, Joyce R, et al. Randomized controlled trial of Yttrium-90-labelled ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy versus rituximab immunotherapy for patients with relapsed or refractory low grade, follicular or transformed B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 2002; 20(10): 2453–63.
14. Kaminski MS, Zelenetz AD, Press OW, Saleh M, Leonard J, Fehrenbacher L, et al. Pivotal study of Iodine 131 tositumomab for chemotherapy refractory low-grade or transformed low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol.* 2001; 19(19): 3918–28.
15. Oratz R, Speyer JL, Wernz JC, Hochster H, Meyers M, Mischak R, et al. Antimelanoma monoclonal antibody-ricin A chain immunoconjugate (XMMME-001-RTA) plus cyclophosphamide in the treatment of metastatic malignant melanoma: results of a phase II trial. *J. Biol. Response Mod.* 1990; 9(4): 345–54.
16. Lynch TJ Jr, Lambert JM, Coral F, Shefner J, Wen P, Blattler WA, et al. Immunotoxin therapy of small-cell lung cancer: a phase I study of N901-blocked ricin. *J. Clin. Oncol.* 1997; 15(2): 723–34.
17. LeMaistre CF, Rosen S, Frankel A, Kornfeld S, Saria E, Meneghetti C. Phase I trial of H65-RTA immunoconjugate in patients with cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 1991; 78(5): 1173–82.
18. Dillman RO, Johnson DE, Ogden J, Beidler D. Significance of antigen, drug, and tumor cell targets in the preclinical evaluation of doxorubicin, daunorubicin, methotrexate, and mitomycin-C monoclonal antibody immunoconjugates. *Mol. Biother.* 1989; 1(5): 250–5.
19. Dillman RO. Antibodies as cytotoxic therapy. *J. Clin. Oncol.* 1994; 12: 1497–515.
20. Tolcher AW, Sugarman S, Gelmon KA, Cohen R, Saleh M, Isaacs C, et al. Randomized phase II study of BR96-doxorubicin conjugate in patients with metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 1999; 17(2): 478–84.
21. Stan AC, Radu DL, Casares S, Bona CA, Brumeanu TD. Antineoplastic efficacy of doxorubicin enzymatically assembled on galactose residues of monoclonal antibody specific for the carcinoembryonic antigen. *Cancer* 1999; 59(1): 115–21.
22. Baldwin RW. Selective cytotoxicity against human tumour cells by a vindesine-monomoclonal antibody conjugate. *Br. J. Cancer* 1983; 47: 43–9.
23. Baryshnikov AY, Oborotov NA. Immunoliposomes – new means of drug delivery. *Sovremennaya onkologiya* 2001; 3(2): 3–7 (in Russian).
24. Rosenecker J, Zhang W, Hong K, Lausier J, Geppetti P, Yoshihara S, Papahadjopoulos D, et al. Increased liposome extravasation in selected tissues: effect of substance P. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1996; 93(14): 7236–41.
25. Kong G, Anyarambhatla G, Petros WP, Braun RD, et al. Efficacy of liposomes and hyperthermia in a human tumor xenograft model: importance of triggered drug release. *Cancer Res.* 2000; 60(24): 6950–7.
26. Papahadjopoulos D, Kilpotin DB, Park JW, Keelung Hong, Yi Shao, Refaat Shalaby, et al. Targeting of drugs to solid tumors using anti-HER2 immunoliposomes. *J. Liposome Research* 1998; 8(4): 425–42.
27. Dufresne I, Desormeaux A, Bestman-Smith J, Gourde P, Tremblay MJ, Bergeron MG. Targeting lymph nodes with liposomes bearing anti-HLA-DR Fab' fragments. *Biochim. Biophys. Acta* 1999; 1421(2): 284–94.
28. Bestman-Smith J, Gourde P, Desormeaux A, et al. Sterically stabilized liposomes bearing anti-HLA-DR antibodies for targeting the primary cellular reservoirs of HIV-1. *Biochim. Biophys. Acta* 2000; 1468(1–2): 161–74.
29. Lopes de Menezes DE, Pilarski LM, Belch AR, Allen TM. Selective targeting of immunoliposomal doxorubicin against human multiple myeloma in vitro and ex vivo. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1466(1–2): 205–20.
30. Deev SM, Lebedenko EM. Modern technology of non-natural antibodies for clinical use. *Acta Naturae* 2001; 1: 32–50 (in Russian).
31. Altshuller EP, Serebryanaya DV, Katruha AG. Recombinant antibodies and methods for increasing their affinity. *Uspehi biologicheskoy himii* 2010; (50): 203–58 (in Russian).
32. Nasonov EL. Perspectives pharmacotherapy inflammatory rheumatic diseases: monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alpha. *Russkij meditsinskiy zhurnal* 2001; 9(7–8): 280–5 (in Russian).
33. Maini RN, Breedveld FC, Kalden JR, Smolen JS, Davis D, Macfarlane JD, et al. Therapeutic efficacy of multiple intravenous infusions of anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody combined with low-dose weekly methotrexate in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1998; 41(9): 1552–63.
34. Moreland LW, Baumgartner SW, Schiff MH, Tindall EA, Fleischmann RM, Weaver AL, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with a recombinant human tumor necrosis factor receptor (p75)-Fc fusion protein. *N. Engl. J. Med.* 1997; 337(3): 141–7.
35. Dixon WG, Symmons DP, Lunt M. Serious infections following anti-tumor necrosis factor α therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum.* 2007; 56: 2896–904.
36. Bongartz T, Sutton AJ, Sweeting MJ, et al. Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies. *JAMA* 2006; 295: 2275–85.
37. Schiff M, van de Putte LB, Breedveld FC, Kupper H, Fischkoff S, Chartash E. Rates of infection in adalimumab rheumatoid arthritis pivotal clinical trials. *Ann. Rheum. Dis.* 2003; 62 (suppl. 1): 184.
38. Schneeweis S, Setoguchi S, Weinblatt M, Katz JN, Avorn J, Sax PE, et al. Anti-tumor necrosis factor alpha therapy and the risk of serious bacterial infections in elderly patients with rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum.* 2007; 56(6): 1754–64.
39. Wolfe F, Michaud K. Lymphoma in rheumatoid arthritis: the effect of methotrexate and anti-tumor necrosis factor therapy in 18,572 patients. *Arthritis Rheum.* 2004; 50(6): 1740–51.
40. Watson KD, Dixon WG, Hyrich KL, Lunt M, Symmons DP, Silman AJ. Influence of anti-TNF therapy and previous malignancy on cancer incidence in patients with rheumatoid arthritis: results from the BSR biologics register. *Ann. Rheum. Dis.* 2006; 65: 512.
41. Chung ES, Packer M, Lo KH, Fasanmade AA, Willerson JT. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor-α, in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the anti-TNF Therapy against congestive heart failure (ATTACH) trial. *Circulation* 2003; 107(25): 3133–40.
42. Ефимов ГА, Вахрушева ОА, Сазыкин АО, Муфазалов ИА, Круплов АА, Купраш ДВ и др. Рекомбинантные одноцепочечные антитела, блокирующие биологическую активность фактора некроза опухоли человека. *Российский иммунологический журнал* 2009; 3(12): 23–9.
43. Shields RL, Lai J, Keck R, O'Connell LY, Hong K, Meng YG, et al. Lack of fucose on human IgG1 N-linked oligosaccharide improves binding to human FcγRIII and antibody-dependent cellular toxicity. *J. Biol. Chem.* 2002; 277(30): 26733–40.
44. Preithner S, Elm S, Lippold S, Locher M, Wolf A, da Silva AJ, et al. High concentrations of therapeutic IgG1 antibodies are needed to compensate for inhibition of antibody-dependent cellular cytotoxicity by excess endogenous immunoglobulin G. *Mol. Immunol.* 2006; 43(8): 1183–93.

## Authors:

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre on Expert Evaluation of Medical Application Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8 Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation.

Avdeeva ZhI. Chief expert of Office of expertise allergens, cytokines and other immunomodulators of Center for examination and control of medical immunobiological preparations. Doctor of Medical Sciences, professor.

Soldatov AA. Chief expert of Office of expertise allergens, cytokines and other immunomodulators of Center for examination and control of medical immunobiological preparations. Doctor of Medical Sciences.

Alpatova NA. Chief expert of Laboratory of immunology of Test Center of Quality Expertise of medical immunobiological preparations. Candidate of Biological Sciences.

Medunitsyn NV. Department Director. Doctor of Medical Sciences, professor, academician of RAS.

Bondarev VP. Director of Center for examination and control of medical immunobiological preparations. Doctor of Medical Sciences, professor.

Mironov AN. Director General. Doctor of Medical Sciences, professor.

Sakaeva IV. Deputy Director General for the expertise of drugs. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

## Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 126051, Москва, Петровский бульвар, 8

Авдеева Жанна Ильдаровна. Главный эксперт Управления экспертизы аллергенов, цитокинов и других иммуномодуляторов Центра экспертизы и контроля МИБП, д-р мед. наук, профессор.

Солдатов Александр Алексеевич. Главный эксперт Управления экспертизы аллергенов, цитокинов и других иммуномодуляторов Центра экспертизы и контроля МИБП, д-р мед. наук.

Алпатова Наталья Александровна. Главный эксперт лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук.

Медуницын Николай Васильевич. Руководитель научного направления, д-р мед. наук, профессор, академик РАН.

Бондарев Владимир Петрович. Директор Центра экспертизы и контроля МИБП, д-р мед. наук, профессор

Миронов Александр Николаевич. Генеральный директор, д-р мед. наук, профессор.

Сакаева Ирина Вячеславовна. Заместитель генерального директора по экспертизе лекарственных средств, канд. фарм. наук.

Адрес для переписки: Авдеева Жанна Ильдаровна; Avdeeva@exppmed.ru

Поступила 27.01.2015 г.  
Принята 16.03.2015 г.