

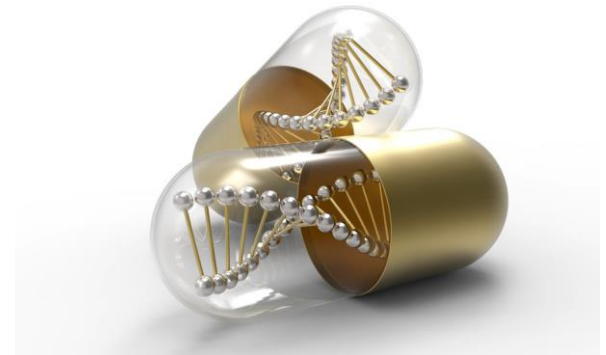


ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ  
ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО  
НАЦІОНАЛЬНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ  
ІМЕНІ П.Л. ШУПИКА

# ІМУНОГЕННІСТЬ ТА БІОЛОГІЧНІ ПРЕПАРАТИ



Проф. Валентина Чоп'як  
Проф. Юрій Бісюк



Київ-2019



# Біологічні препарати





# Біологічні препарати



Потенціал медичного застосування клітних та генних біологічних препаратів

- це лікування багатьох захворювань, невиліковних на сьогодні

## Приклади:

- МАТ
- Інсуліни
- Соматотропний гормон
- Інтерферони
- Імуноглобуліни
- Еритропоетини
- Циклоспорини
- Фактори згортання крові
- Колонієстимулюючі фактори
- Антикоагулянти
- Вакцини

# Біологічні препарати

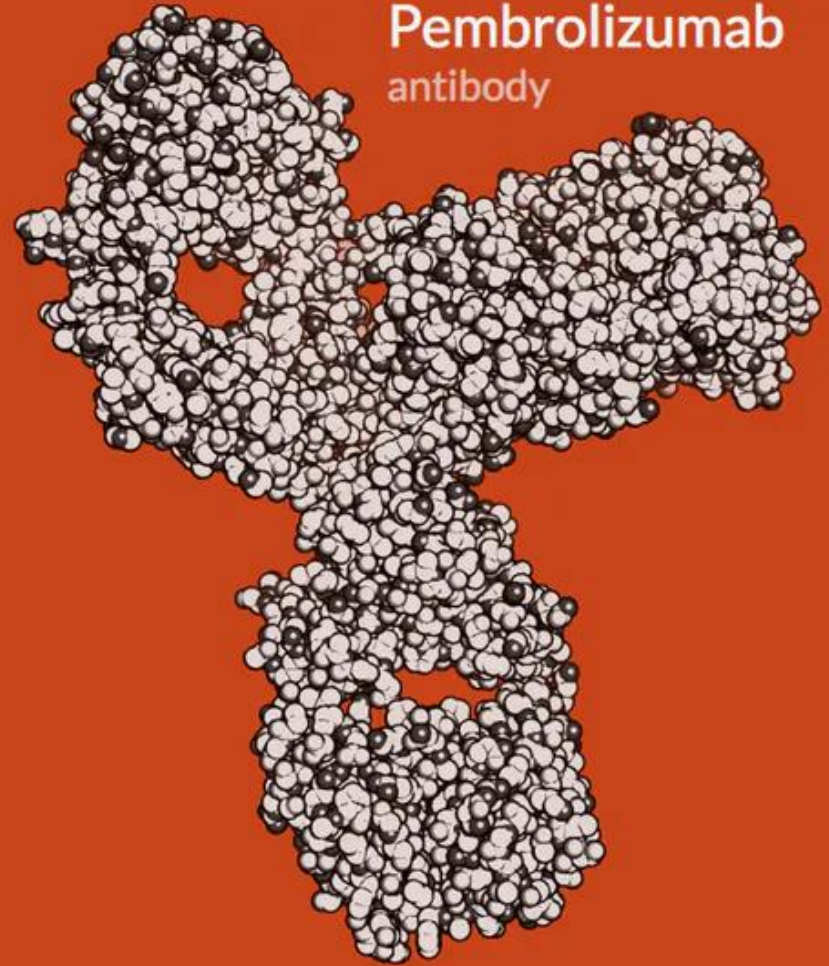
Aspirin  
NSAID

Crestor  
synthetic  
statin



Insulin  
hormone

Pembrolizumab  
antibody



conventional

biologic



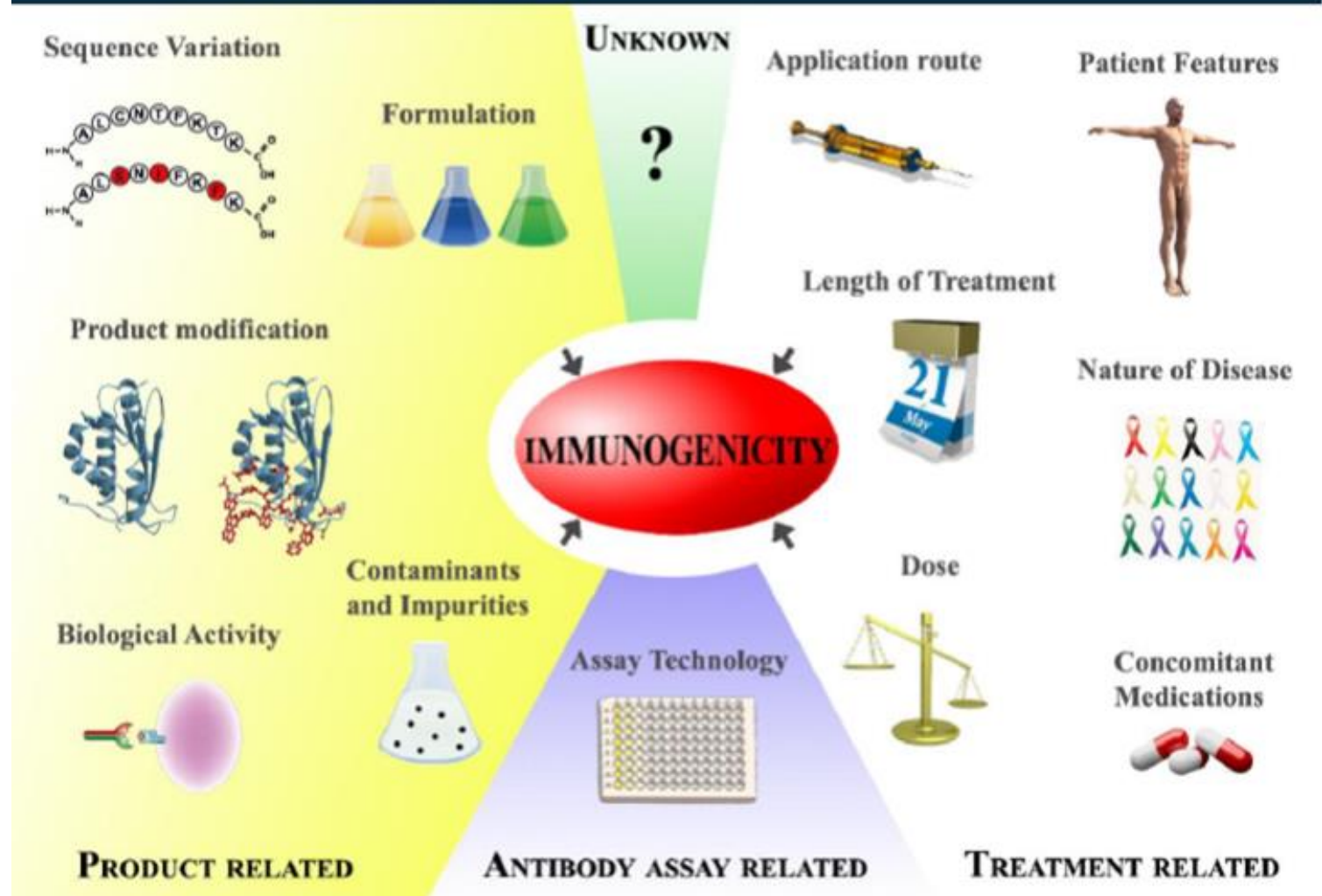
# ВИЗНАЧЕННЯ

**Імуногенність** - здатність антигену викликати імунну відповідь незалежно від імунної специфічності

Ступінь імуногенності залежить не тільки від властивостей молекули антигену, але і від багатьох екзогенних, ендогенних факторів та індивідуальності пацієнта

# Фактори, які визначають імуногенність препаратів

## Factors influencing immunogenicity of proteins

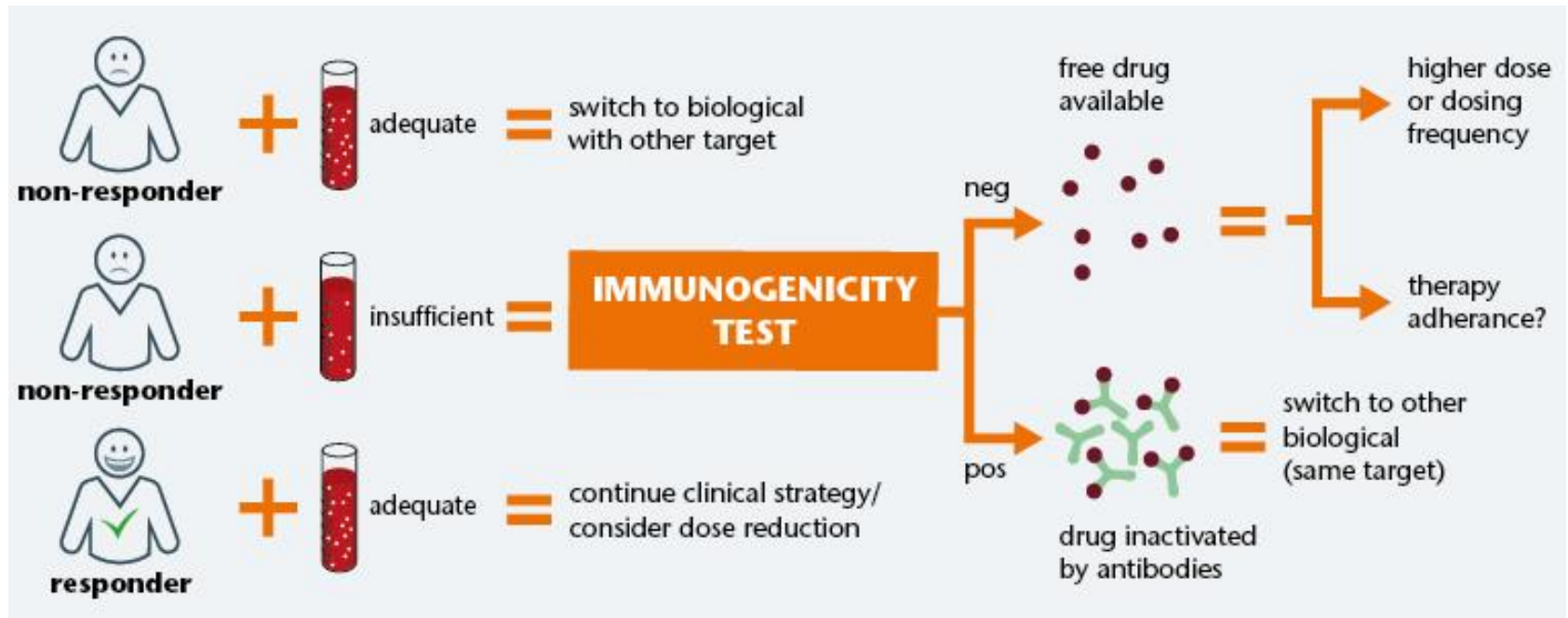




# Фактори, які визначають імуногенність препаратів

- Структура ЛЗ
- Присутність допоміжних речовин
- Ключові фактори:
  - первинна структура ЛЗ
  - посттрансляційні модифікації структури
- Індивідуальні характеристики пацієнта,
- Схеми лікування

# Фактори, які визначають імуногенність препаратів







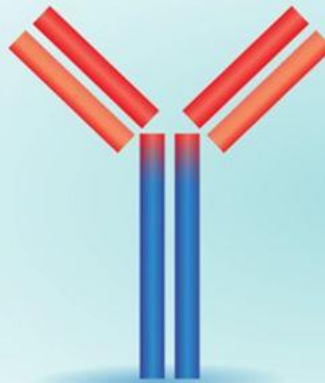
# Структура та функції МКА

**Murine**  
(0% human)



Generic suffix    -omab

**Chimeric**  
(65% human)



-ximab

**Humanized**  
(> 90% human)



-zumab

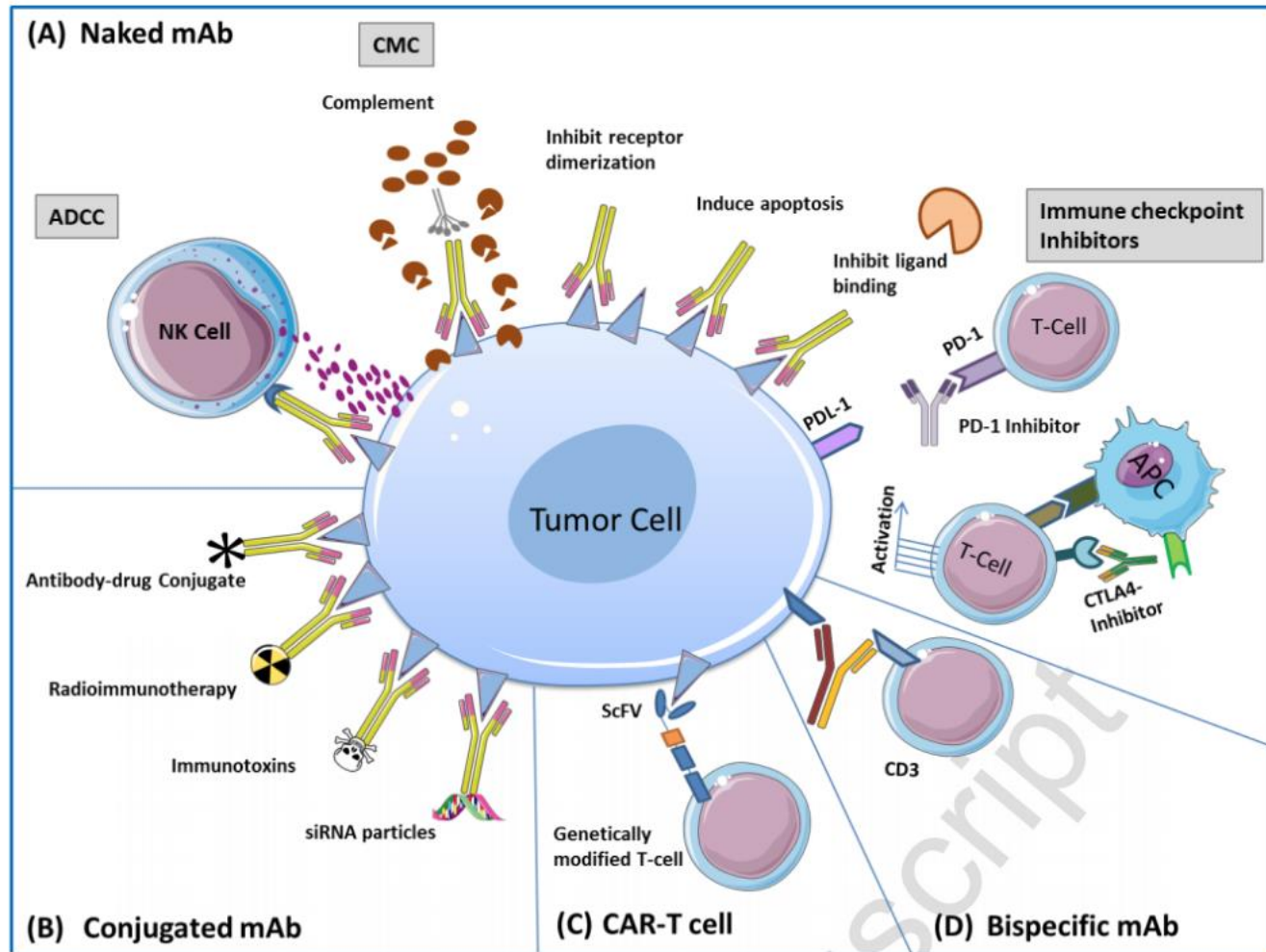
**Fully Human**  
(100% human)



-umab



# Структура та функції МКА



# Типи імуноглобулінів

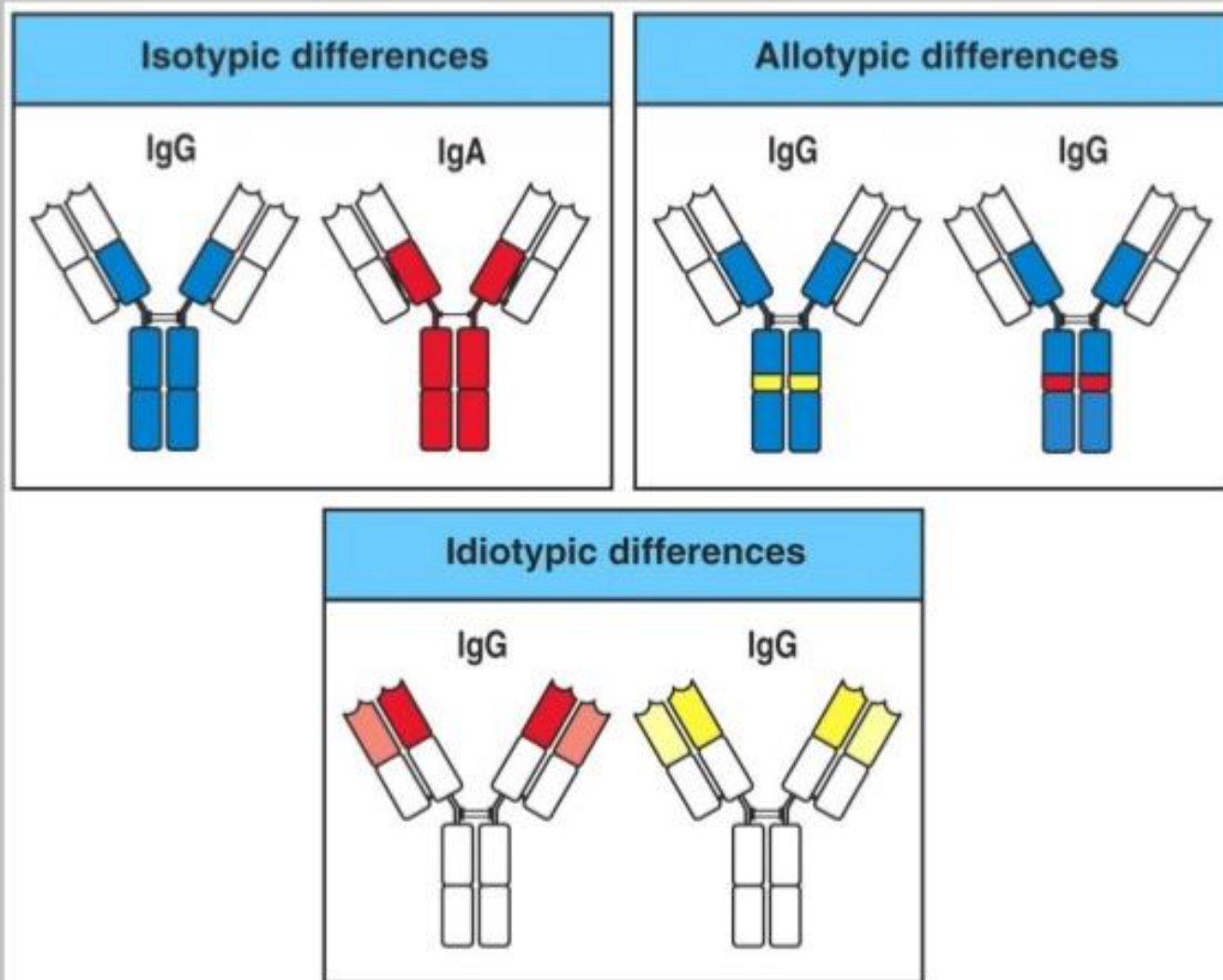


Figure 4-24 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)



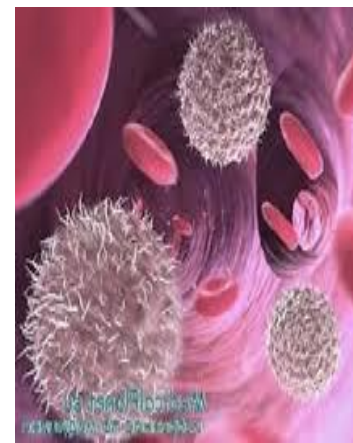
# Причини, пов'язані зі структурою ГБП

- Мишинні епітопи в химерних та гуманізованих МАТ і інших БП
- Ідіотопи та алотипи, які присутні у всіх МАТ,
- Неоантигени, які утворюються в зоні стику гібридних білків
- Нелінійні епітопи, присутні в агрегованих БП
- Чужерідне глікозування
- Людські МАТ менша імуногенність-антиідіотипові, пов'язані з блокуванням епітопу центру зв'язування АТ- вони є нейтралізуючими
- Великі імунні комплекси з БП
- Утворення високоафінних ізотипів IgG до препаратів



# Ендогенні фактори, залежні від біотерапевтичного продукту

- Зміни молекулярної структури
- Агрегати, продукти деградації, окислені та дезаміновані форми
- Білки або ДНК своїх власних клітин
- Нові епітопи
- Первинна структура





# Екзогенні фактори, залежні від біотерапевтичного продукту



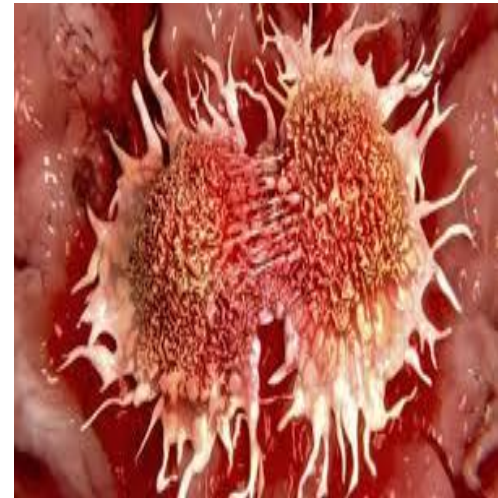
- Дозування
- Клінічний маршрут
- Частота прийому
- Епізодичність/постійність лікування
- Тривалість лікування
- Переважаючий спосіб по



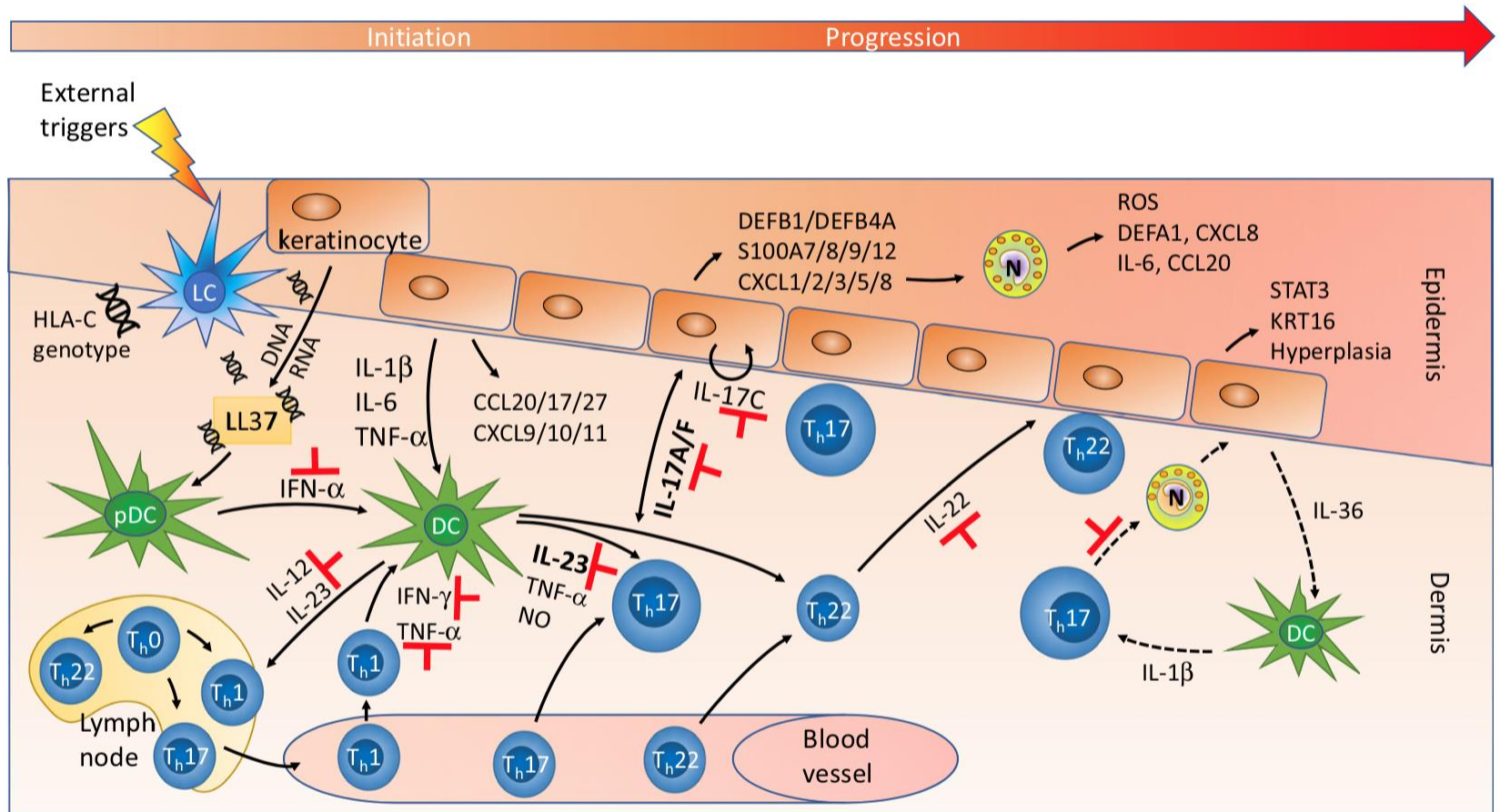


# Індивідуальні фактори, залежні від організму пацієнта

- Генетичний статус
- Імунні показники
- Стан захворювання
- Постійний прийом інших препаратів



# ПЕРСОНАЛІЗОВАНЕ ЛІКУВАННЯ ПСОРІАЗУ



[APMIS](#). 2019 May;127(5):386-424. doi: 10.1111/apm.12934.

**Personalized medicine-concepts, technologies, and applications in inflammatory skin diseases.**





# ETANERCEPT

Mol Diagn Ther. 2012 Feb 1;16(1):29-34. doi: 10.2165/11594660-000000000-00000.

## **Pharmacogenetic analysis of TNF, TNFRSF1A, and TNFRSF1B gene polymorphisms and prediction of response to anti-TNF therapy in psoriasis patients in the Greek population.**

Vasilopoulos Y<sup>1</sup>, Manolika M, Zafiriou E, Sarafidou T, Bagiatis V, Krüger-Krasagaki S, Tosca A, Patsatsi A, Sotiriadis D, Mamuris Z, Roussaki-Schulze A.

### **Author information**

1 Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Larissa, Greece. [iovasilopoulos@bio.uth.gr](mailto:iovasilopoulos@bio.uth.gr)

- Positive response to etanercept, poor response to infliximab and adalimumab in Ps.
- Carriage of TNF -857C or TNFRSF1B 676T alleles was associated with positive response to drug treatment in patients treated with etanercept ( $p = 0.002$  and  $p = 0.001$ , respectively).

# ADALIMUMAB

Mol Diagn Ther  
DOI 10.1007/s40291-016-0198-z



SHORT COMMUNICATION

## A Pharmacogenetic Study of Psoriasis Risk Variants in a Greek Population and Prediction of Responses to Anti-TNF- $\alpha$ and Anti-IL-12/23 Agents

Sofia Masouri<sup>1</sup> · Irene Stefanaki<sup>1</sup> · Giorgos Ntritos<sup>2</sup> · Katerina P. Kypreou<sup>1</sup> · Eleni Drakaki<sup>1</sup> · Evangelos Evangelou<sup>2,3</sup> · Electra Nicolaidou<sup>1</sup> · Alexandros John Stratigos<sup>1</sup> · Christina Antoniou<sup>1</sup>

**Table 1** Associations between rs10484554 and response to anti-tumor necrosis factor alpha (anti-TNF- $\alpha$ ) agents

rs10484554	Infliximab		Etanercept		Adalimumab		Overall
	Good response: PASI $\geq 75$ [n (%)]	Non-response: PASI <50 [n (%)]	Good response: PASI $\geq 75$ [n (%)]	Non-response: PASI <50 [n (%)]	Good response: PASI $\geq 75$ [n (%)]	Non-response: PASI <50 [n (%)]	
TT	5 (4.8)	1 (4.8)	2 (6.5)	1 (25)	0	3 (33.3)	
CT	57 (54.8)	10 (47.6)	17 (54.8)	1 (25)	18 (60)	2 (22.2)	
CC	42 (40.4)	10 (47.6)	12 (38.7)	2 (50)	12 (40)	4 (44.5)	
<i>p</i> value					0.007		0.032
Total	104	21	31	4	30	9	

One sample of good responders to adalimumab failed genotyping for rs10484554

*PASI* <50 psoriasis area and severity index score improvement of <50 %, *PASI*  $\geq 75$  psoriasis area and severity index score improvement of  $\geq 75$  %

Positive response to adalimumab in Ps, poor response to ustekinumab in Ps

# USTEKINUMAB

Mol Diagn Ther  
DOI 10.1007/s40291-016-0198-z



SHORT COMMUNICATION

## A Pharmacogenetic Study of Psoriasis Risk Variants in a Greek Population and Prediction of Responses to Anti-TNF- $\alpha$ and Anti-IL-12/23 Agents

Sofia Masouri<sup>1</sup> · Irene Stefanaki<sup>1</sup> · Giorgos Ntritsos<sup>2</sup> · Katerina P. Kypreou<sup>1</sup> · Eleni Drakaki<sup>1</sup> · Evangelos Evangelou<sup>1,3</sup> · Electra Nicolaidou<sup>1</sup> · Alexandros John Stratigos<sup>1</sup> · Christina Antoniou<sup>1</sup>

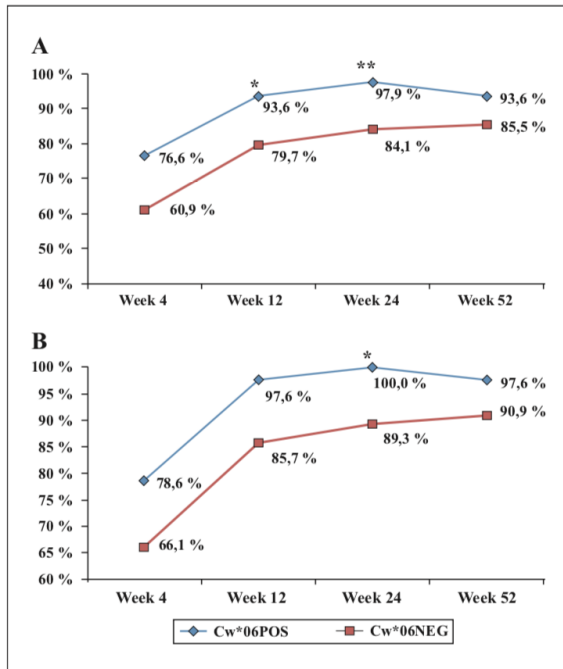
**Table 3** Single-nucleotide polymorphisms significantly associated with response to ustekinumab therapy

	Good response: PASI $\geq 75$ [ <i>n</i> (%)]	Non-response: PASI $< 50$ [ <i>n</i> (%)]
rs151823		
CC	18 (100)	2 (50)
CA	0	2 (50)
<i>p</i> value	0.026	
Total	18	4
rs26653		
GG	11 (61.11)	0
GC	7 (38.89)	3 (75)
CC	0	1 (25)
<i>p</i> value	0.016	
Total	18	4

PASI  $< 50$  psoriasis area and severity index score improvement of  $< 50$  %, PASI  $\geq 75$  psoriasis area and severity index score improvement of  $\geq 75$  %

## Positive response to ustekinumab in Ps

# USTEKINUMAB



**Figure 1.** Clinical response to ustekinumab in HLA-Cw\*0602-positive (Cw\*06POS) and HLA-Cw\*0602-negative (Cw\*06NEG) patients. Efficacy data were analysed by intention to treat: non-responder imputation. **A)** Proportion of PASI75 responders in Cw06POS ( $n = 47$ ) and Cw06NEG ( $n = 69$ ) patients (total  $n = 116$ );  $*p = 0.038$ ;  $**p = 0.026$ . **B)** Proportion of PASI75 responders in Cw06POS ( $n = 42$ ) and Cw06NEG ( $n = 56$ ) patients under standard dosage of ustekinumab (total  $n = 98$ );  $*p = 0.04$ .

**Psoriasis pharmacogenetics: HLA-Cw\*0602 as a marker of therapeutic response to ustekinumab**



# Головні механізми імуногенності

- Реакція імунної системи на ГБП -Т-хелпер-залежна гуморальна відповідь
- Антитіла - високоафінні з підтипами IgG (IgG1 і IgG4)



# Клінічні прояви імуногенності

- Місцеві реакції: біль при натисткуванні, гіперемія, затвердіння і свербіж в місці ін'єкції
- Системні реакції: загальна слабкість, риніт, субфебрильна температура, біль в горлі, кашель, біль в м'язах, суглобах, набряки, затруднене дихання, падіння тиску тощо
- Віддалені: аутоімунні, алергічні, імунопроліферативні захворювання



# Вимоги до методів обстеження

- ▶ Характеристика аналітичних методів
- ▶ Стандартизація методів, стандартні матеріали, якісні контролю та валідація методик





# Різновидності кількісного визначення антитіл

- ▶ Методи скринінгу
- ▶ Методи, які підтверджують присутність антитіл
- ▶ Методи градації специфічності антитіл
- ▶ Методи визначення нейтралізуючих антитіл





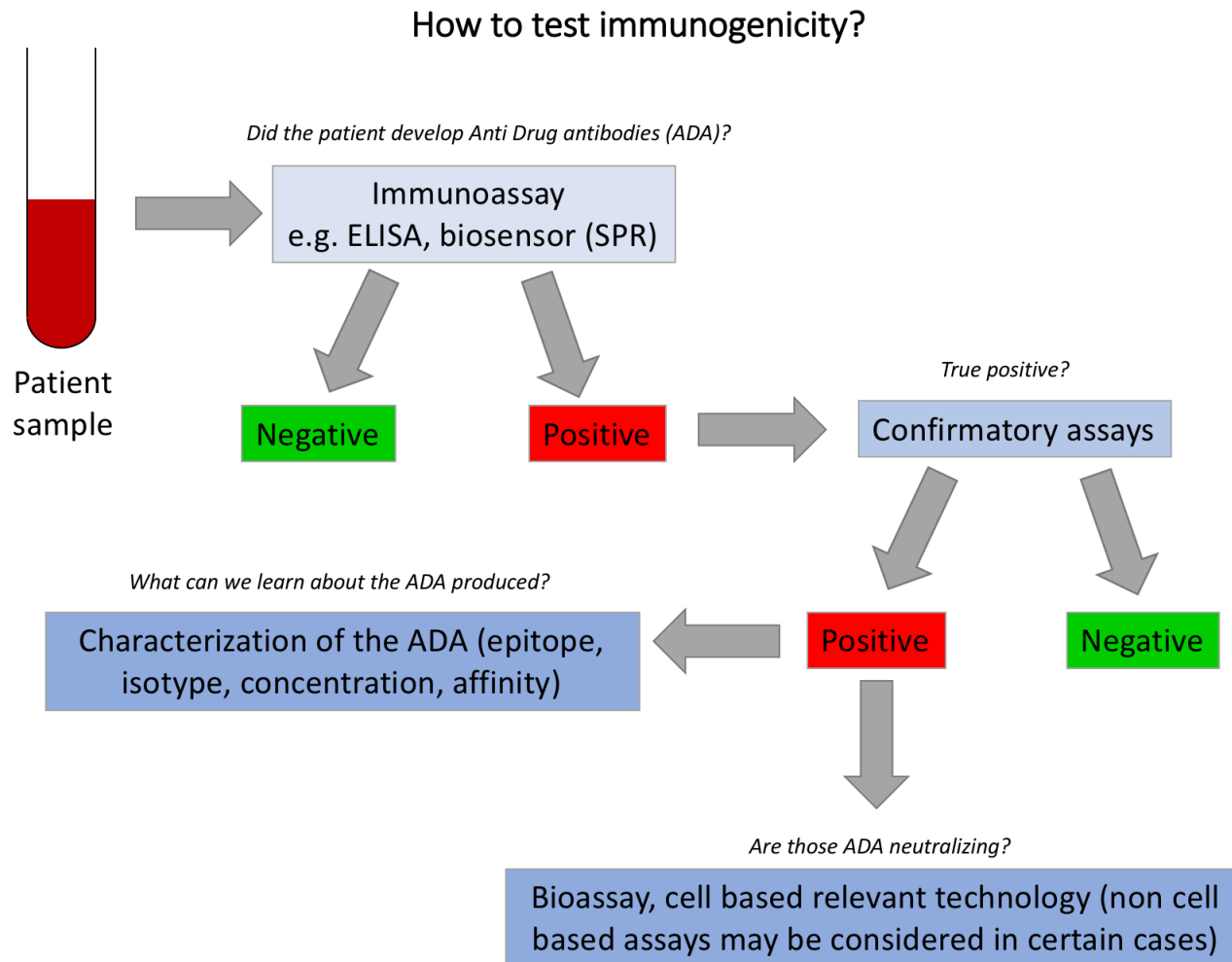
# Сучасне визначення антитіл

- Імуноферментний аналіз (ІФА)
- Поверхневий плазмовий резонанс
- Непрямої імунофлуоресценції
- Хемолюмінісценції





# Сучасне визначення антитіл





# Методи оцінки клітинної імунної відповіді

- ▶ Проточна цитометрія
- ▶ Імунофлюоресцентна мікроскопія





# Клітинні методи оцінки імуногенності



- **ADCC – антитілозалежна клітинна цитотоксичність**
- **CDC- комплементарнозалежна цитотоксичність**
- **PDCC- фагоцитарнозалежна цитотоксичність**
- **Апоптоз імунокомпетентних клітин**



# Алгоритм оцінки імуногенності

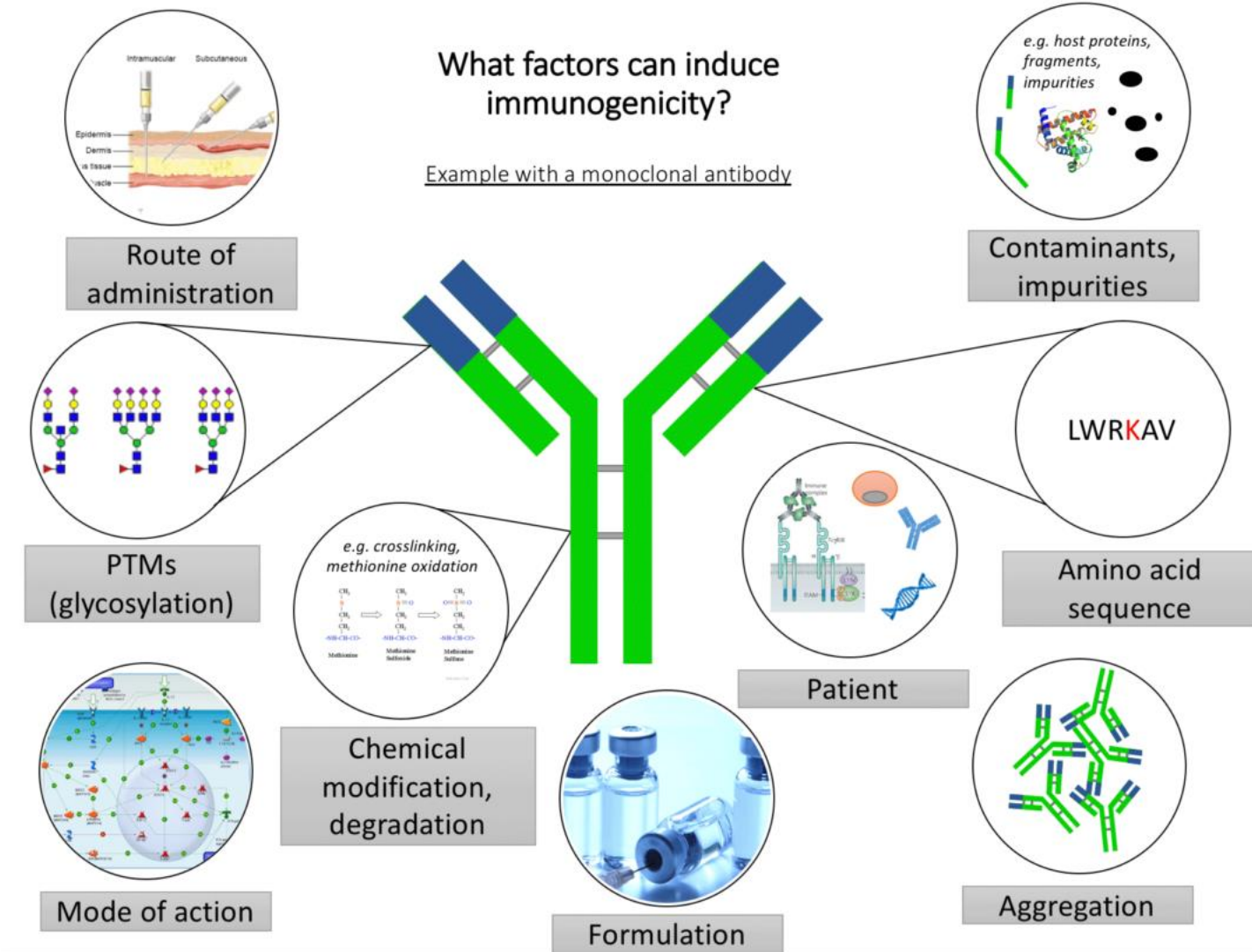




# Імуногенність - безпека та ефективність

- Локальні постін'єкційні реакції
- Системні постін'єкційні реакції
- Клініка: міалгія, атралгія, біль голови, задишка, тахікардія, тривога
- Зниження біодоступності
- Зміна фармакокінетики
- Зміна розподілу МКА, в зв'язку з утворенням ЦІК
- Зниження концентрації – вторинна неефективність – нейтралізуючі АТ
- Персистенція великої кількості АТ та ЦІК
- Зниження ефективності інших МКА
- Зниження чутливості діагностичних тестів

# Профілакування імуногенності





# Профілакткування імуногенності

- Вид прийому БПВП (МАТ в підшкірній формі)
- Паління
- Маса тіла пацієнта
- Присутність АТБП
- Концентрація ГІБП в крові
- Назначати першими людські МАТ, як менш імуногенні ЛС
- Тривалість, доза ,безперевність прийому
- Базова терапія
- Ризик венозних і артеріальних тромбоемболічних ускладнень
- Ризик ЦІК



# Імунологічні лабораторії Центру та кафедри клінічної імунології та алергології в Львові



- Рівень ТНФ-а
- Рівень загального комплементу
- Рівень ЦІК
- Апо-тест (нейтрофіли, моноцити та лімфоцити)
- Анти –АТ до Інфлюксимабу
- Під спостереження впродовж року є 41 пацієнт на ЮРА, РА, АСА 18+, які отримують по регіональній програмі інгібітори ТНФ-а. Результати будуть надані на наступній конференції.



# Перспектива подолання імуногенності

- Комп'ютерне моделювання – прогностична оцінка імуногенності
- Наявність епітопів, здатних зв'язуватися з HLA DR антигенами 2-го класу
- Методом генної інженерії видалити з молекули МАТ Т-хелперні епітопи або внести толярогенні послідовності



# Заключення

- Біологічні препарати – це особливий клас ЛЗ, які потребують поглибленої оцінки ефективності та безпеки з врахуванням імуногенності
- Необхідні тривалі клінічні та імунологічні спостереження пацієнтів щодо віддаленої дії МКА та інших біологічних препаратів протягом одного року, 3,5, і більше
- Для оцінки продукції нейтралізуючих антитіл вимагати від виробників МКА наявності відповідних специфічних тест-систем для їх моніторного визначення
- Необхідність створення високотехнологічної референс-лабораторії для оцінки імуногенності при реєстрації БП та біосимілярі, а також у експертних випадках



**Дякую заувагу!**

