

Umanizzazione di anticorpi ricombinanti contro beta 1-3 glucano

Infezioni causate da *Candida albicans* ed altre specie di funghi opportunistici come *Aspergillus* e *Cryptococcus* rappresentano ancora oggi un problema per la salute umana, in particolare nei soggetti immunocompromessi come: malati di AIDS, pazienti sotto chemioterapia, soggetti sottoposti ad interventi chirurgici e soggetti con patologie croniche dell'apparato respiratorio.

Le classiche terapie antifungine spesso non sono in grado di controllare o debellare queste infezioni, oltre a provocare complicazioni dovute ad effetti collaterali del farmaco, resistenza sviluppata dal ceppo fungino e costi elevati a carico del paziente.

Nel 42% di casi di candidosi disseminata i trattamenti con farmaci antifungini falliscono il loro scopo, causando un tasso di mortalità del 40-50%. Inoltre, candidosi vulvovaginali croniche, che incidono gravemente sulla qualità della vita di milioni di donne in tutto il mondo, sono spesso refrattarie ai trattamenti antifungini.

Alla luce di tali problematiche, si cerca di sviluppare nuove forme di immunoprofilassi e trattamenti terapeutici atti a ridurre drasticamente l'incidenza di infezioni fungine, diminuendo di conseguenza l'indice di mortalità.

Negli ultimi anni i vaccini costituiti da antigeni fungini stanno ottenendo un'attenzione particolare, al fine di scatenare una risposta immunitaria specifica in grado di contrastare il patogeno.

Altre vie che si stanno attualmente percorrendo includono trattamenti basati sulla somministrazione di anticorpi contro antigeni di tale microrganismo.

Tra i vari anticorpi che hanno mostrato attività antimicotica in studi in vitro e in vivo, troviamo il monoclonale murino mAb 2G8. Esso è rappresentato da un'immunoglobulina della sottoclasse IgG2b, rivolto contro β -1,3 glucano, che è tra i maggiori componenti polisaccaridici della parete cellulare di molte specie di funghi. Il mAb 2G8 è stato sviluppato dal gruppo del Prof. Antonio Cassone, il quale ha descritto dopo studi in vitro ed in vivo su topi, la capacità di tale molecola di conferire protezione nei confronti DI diverse specie fungine come *Candida Albicans*, *Aspergillus fumigatus* e *Cryptococcus neoformas*.

Tuttavia uno dei problemi principale degli anticorpi monoclonali murini risiede nella loro capacità di scatenare reazioni immunitarie quando somministrati nell'uomo. Queste reazioni possono causare eventi avversi, a volte fatali per l'uomo, oppure la neutralizzazione dell'anticorpo somministrato tramite la formazione di HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies), limitandone in questo modo la loro applicazione.

Per poter superare questo problema e ridurre o eliminare l'immunogenicità, sono state sviluppate diverse metodiche al fine di ottenere immunoglobuline con un contenuto di origine murina sempre minore.

Tra le principali limitazioni nell'uso degli anticorpi monoclonali umanizzati full-length ci sono la limitata penetrazione nelle masse tumorali, la loro elevata emivita in circolo che non li rende adatti per applicazioni come radioterapia o imaging, poiché potrebbero causare irradiazioni nei tessuti sani e un elevato background.

Un notevole progresso si è ottenuto quando, mediante la tecnologia del DNA ricombinante, è stato possibile produrre frammenti anticorpali. Queste molecole sono in grado di mantenere l'attività di binding delle immunoglobuline full-length. Tra i frammenti maggiormente sviluppati finora ci sono gli **scFv** (single chain fragment variable), molecole di piccole dimensioni (25-30 KDa), strutturalmente costituiti dalla regione variabile della catena pesante (VH) e di quella leggera (VL) unite tra loro mediante un peptide "linker", in grado di legarsi con un'unica specificità all'antigene d'interesse.

Lo scopo del progetto è quello di sviluppare un anticorpo ricombinante umanizzato in formato scFv derivante dal monoclonale murino mAb 2G8.