

ANTICORPOS NA TERAPIA CONTRA O CÂNCER

Marco Cesar Cunegundes Guimarães

Doutor em Imunologia Aplicada,
Universidade Federal do Espírito Santo,
Centro Biomédico, Dept. de Morfologia.
marco.cunegundes@gmail.com

Ian Victor Silva

Doutor em Fisiologia,
Universidade Federal do Espírito Santo,
Centro Biomédico, Dept. de Morfologia.

Letícia Batista Azevedo Rangel

Doutora em Ciências Biológicas,
Universidade Federal do Espírito Santo,
Centro Biomédico, Dept. de Morfologia.

RESUMO

Os anticorpos são proteínas plasmáticas relacionadas com a imunidade humoral. Foram descobertos no soro de animais que eram tratados com doenças infecciosas por volta de 1890. Após a sua descoberta foram amplamente utilizados em soroterapia contra muitas doenças causadas por bactérias. No final da década de 1930 a soroterapia foi abandonada por causa da sua toxicidade e do surgimento da penicilina. Alguns avanços biotecnológicos permitiram o desenvolvimento de outra classe de anticorpos, os anticorpos monoclonais, reintroduziu a imunoterapia a base de anticorpos contra doenças infecciosas, genéticas e, o câncer. Estes anticorpos obtiveram resultados muito satisfatórios quando proteínas de células tumorais começaram a ser isoladas, sendo usados tanto na terapia como no diagnóstico. O desenvolvimento dos monoclonais envolve uma série de problemas. A produção depende da indução de células tumorais em camundongos, longas terapias podem fazer com que o organismo sofra com efeitos indesejáveis, além do elevado custo de tratamento. Por isso, muitos pesquisadores começaram a desenvolver alternativas que visam minimizar o custo, o sofrimento do organismo humano, bem como dos animais envolvidos em sua produção, desenvolvendo anticorpos monoclonais com ferramentas moleculares. O mercado de biofarmacêuticos associados com a produção de anticorpos monoclonais gera muitos bilhões de dólares anualmente, tendo os Estados Unidos como principal colaborador. No Brasil existem poucas empresas e o mercado ainda se restringe a produção de anticorpos para centros de pesquisa.

Palavras-chave: Anticorpos monoclonais, imunoterapia, imunoterapia do câncer e comercialização de anticorpos, indústria de biofármacos.

ABSTRACT

Antibodies are plasma proteins related to humoral immunity. They were discovered in the serum of animals that were treated with infectious diseases around 1890. After its discovery were widely used in serum therapy against many diseases caused by bacteria. At the end of the 1930's the serum therapy was abandoned because of its toxicity and the introduction of antibiotics. Biotechnological advances enabled the development of another class of antibodies, the monoclonal antibodies that reintroduced the antibody-based therapy against infectious disease, genetic diseases and cancer. These antibodies obtained very satisfactory results when proteins in tumor cells began to be isolated, being used both in therapy and in diagnosis. The development of monoclonal involves a number of problems. The production depends on the induction of tumor cells in mice, long therapy may cause the body suffer due side effects, in addition to the high cost of treatment. Therefore, many researchers began to develop alternatives which aim to minimize the

cost, the suffering of the human body as well as the animals involved in its production, developing monoclonal antibodies with molecular tools. The biopharmaceutical market of monoclonal antibodies production generates many billions of dollars annually, with the United States as the principal. In Brazil there are few companies and the market still restricts the production of antibodies to research centers.

Key-words: Monoclonal antibody, biopharmaceutical industry, antibody market, immunotherapy and cancer immunotherapy

INTRODUÇÃO

Anticorpos ou imunoglobulinas são proteínas produzidas por linfócitos B que ocorrem naturalmente como parte do sistema imune adaptativo pelo reconhecimento de antígenos ⁽¹⁾. Anticorpos se fixam em moléculas alvo com alta afinidade e especificidade, esta característica fez com que pesquisadores aceitassem a sua utilização como potente imunoterápico. Desde a sua descoberta, os anticorpos tem sido utilizados como terapêuticos de doenças infecciosas, especialmente bacterianas, como observado inicialmente por von Bhering e Kitasato em seus estudos com a difteria. A partir daí, inúmeros trabalhos foram realizados com outras bactérias ^(2 e 3). Estes anticorpos usados em soroterapia eram, inicialmente, anticorpos policlonais. Em meados da década de 1930, com o advento da penicilina e o acúmulo de resultados a despeito dos efeitos indesejáveis de imunoterapias bacterianas, os anticorpos caíram em desuso e foram estritamente utilizados contra toxinas bacterianas ⁽⁴⁾. Apesar da sua eficiência na marcação e eliminação de alvos específicos, os anticorpos não eram economicamente atrativos para a indústria farmacêutica, principalmente devido ao seu elevado custo de produção, a sua dificuldade em ser produzido em larga escala, aos efeitos indesejáveis ocasionados pelo constante uso, pela múltipla especificidade de diferentes isotipos existentes no soro. Além disso, problemas com o soro hiperimune incluíam a elevada variação entre lotes, anticorpos com baixa especificidade e riscos na transmissão de doenças infecciosas. Imunoglobulinas comercialmente avaliadas diferiam na sua capacidade de opsonização ^(5, 6, 7 e 8). Esses problemas motivaram a produção de anticorpos com especificidade única e em larga escala. Em 1975, a tecnologia de hibridomas foi desenvolvida se tornando um importante passo para a produção de anticorpos monoclonais, retomando o interesse pela indústria farmacêutica ⁽⁹⁾. Os anticorpos monoclonais (Mabs) diferem dos policlonais em vários aspectos, os Mabs são gerados *in vitro* pela técnica de hibridoma ou de DNA recombinante. Mabs são imunoglobulinas homogêneas que, por definição, reconhecem um epítipo e tem atividade específica mais elevada do que preparações com anticorpos policlonais. Em vias gerais, formulações de Mabs são superiores aos policlonais em relação à homogeneidade, constância, atividade específica e, possivelmente, segurança ⁽⁴⁾. Este trabalho visa demonstrar um panorama sobre o histórico do uso de anticorpos usados em terapias contra o câncer e principais problemas associados a essa terapia, além do mecanismo de ação e comercialização.

Terapia do Câncer Baseada em Anticorpos

Anticorpos são componentes críticos do sistema imunológico, essas proteínas respondem contra patógenos invasores ou outras células e proteínas que o sistema de defesa reconhece como sendo estranhas ⁽¹⁾. Apesar disso, o desenvolvimento e proliferação de tumores pode ocorrer naturalmente em um organismo sem que haja a intervenção de anticorpos nativos do próprio organismo. Isso acontece por que as proteínas tumorais não são classicamente imunogênicas para o indivíduo ⁽¹⁰⁾. Por esse motivo, pesquisadores usaram o processo de produção de anticorpos monoclonais contra proteínas expressas em células tumorais, com o propósito de marcá-las para a morte ⁽¹¹⁾. Os anticorpos podem destruir células tumorais por meio da ativação do complemento ou da citotoxicidade dependente de anticorpos mediada por células, na qual macrófagos portadores de receptor Fc ou células NK medeiam a destruição, além de bloquearem sinais de crescimento, tais como a formação de novos vasos ⁽¹²⁾. Anticorpos específicos para tumor podem ser acoplados a moléculas tóxicas, radioisótopos e drogas antitumorais para promover a destruição desses agentes citotóxicos especificamente para o tumor ⁽¹³⁾. Usando esta técnica pesquisadores começaram a desenvolver inúmeros trabalhos á medida que proteínas tumorais eram isoladas ^(14 e 15). No entanto, os Mabs se demonstraram moléculas imunogênicas por causa da sua produção em células

heterólogas, provocando reações mais severas no organismo, como reações alérgicas, náusea, diarreia, problemas cardíacos e de pele, de acordo com o tempo de utilização terapêutica ⁽¹⁵⁾. Essa característica impediu a liberação nos Estados Unidos, pelo FDA, de muitos processos para avaliação clínica desses anticorpos. Para solucionar esse problema, genes humanos foram fusionados com genes de camundongos para produzir os anticorpos, e dependendo do quanto do Mab é proveniente dos seres humanos, esses são chamados de anticorpos quiméricos ou humanizados ^(16 e 17). Estes anticorpos possuem a sua imunogenicidade diminuída aumentando as chances da terapia. Além disso, várias dificuldades precisam ser superadas para que o uso de anticorpos em terapia seja efetivo. Uma quantidade suficiente de anticorpos deve atingir o alvo apropriado no tumor antes que sejam eliminados no sangue pelas células fagocíticas portadoras de receptor Fc. As toxinas, drogas e radioisótopos ligados ao anticorpo podem ter efeito sistêmico resultante da circulação através dos tecidos normais ⁽¹⁵⁾. Associados a todos esses problemas ainda se discute pelos partidos verdes europeus e a sociedade protetora dos animais nos Estados Unidos a utilização de camundongos para produção de Mabs ⁽¹⁸⁾, por esse motivo existe uma corrida mundial pela produção de anticorpos utilizando ferramentas moleculares que eliminem o estresse animal, as reações indesejáveis e aumente a concentração de anticorpos produzidos ⁽¹⁸⁾. Nesse sentido, com o aumento do conhecimento da estrutura genética dos anticorpos, expressão *in vivo* e regulação gênica, tem possibilitado a construção de “anticorpos feitos como no organismo humano”, podem ser incluídos os anticorpos quiméricos que representam o primeiro efector para a redução da imunogenicidade de anticorpos monoclonais heterólogos ⁽¹⁷⁾, CDR-enxertados ^(19 e 20), anticorpos transgênicos ⁽²¹⁾ e os fragmentos de anticorpos recombinante ⁽²²⁾. Baseado em diferentes tecnologias existem hoje no mercado muitos anticorpos utilizados para terapia de doenças infecciosas, cânceres, transplantes, artrite, entre outras (tabela 1).

Mercado de Anticorpos Terapêuticos

O mercado de anticorpo monoclonal representa o segmento de crescimento mais rápido dentro da indústria farmacêutica. Este setor espera alcançar uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 14% entre 2006-2012, ultrapassando facilmente a taxa de 0,6% de crescimento do mercado de pequenas moléculas. Estima-se que o mercado global de anticorpos terapêuticos gere bilhões de dólares por ano, tendo como principais aplicações terapêuticas o câncer e artrite com estimativa comercial de \$15 bilhões e \$20 bilhões em 2010, respectivamente ⁽²³⁾. Os Estados Unidos é o país com o maior número de empresas atuantes no mercado mundial de produção de anticorpos terapêuticos contra o câncer. Nos últimos seis anos o governo americano autorizou 13 novos Mabs terapêuticos e durante os próximos cinco anos a indústria tem potencial para duplicar esse número. Em 2007, existiam 20 anticorpos monoclonais no mercado americano liberados para uso humano ⁽²⁴⁾. O mais significativo avanço na aplicação de anticorpos monoclonais na oncologia tem sido a introdução do bevacizumab (Avastin) e um anticorpos anti-fator de crescimento endolial e, do cetuximab (Erbix), um anticorpo anti-fator de crescimento epidermal ⁽²⁵⁾.

CONCLUSÃO

Os anticorpos monoclonais têm sido uma plataforma de sucesso para o mercado de bioterapêuticos, demonstrando alta afinidade, especificidade e baixa toxicidade em relação às drogas clássicas. Avanços tecnológicos no desenvolvimento e produção de Mabs revelam que fragmentos de anticorpos e outras pequenas e menos complexas proteínas tem o potencial de superar muitas desvantagens dos Mabs. O sucesso comercial e terapêutico de anticorpos tais como Rituxan, Avastin e Erbitux, irá reforçar na indústria a necessidade de se estudar a próxima geração de anticorpos terapêuticos. Atualmente, existem mais de 150 companhias que desenvolveram mais de 300 anticorpos para o combate ao câncer e mais de 590 projetos estão em fase de execução. A identificação de marcadores funcionais deverá expandir o número de tumores que podem ser efetivamente “atacados” por anticorpos monoclonais. Portanto, a expectativa é que o número de anticorpos usados na terapia de diferentes cânceres aumente consideravelmente.

Tabela 1. Anticorpos monoclonais no mercado utilizados nos Estados Unidos.

Tipo	Produto	Empresa	Aprovação
Murino	Orthoclone OKT3	Johnson & Johnson	1986
Quimérico	ReoPro	Lilly	1994
Quimérico	Rituxan	Genentech	1997
Quimérico	Remicade	Johnson & Johnson	1998
CDR-enxertado	Zenapax	Roche	1997
CDR-enxertado	Synagis	Medimmune	1998
CDR-enxertado	Herceptin	Genentech	1998
CDR-enxertado	Mylotarg	Wyeth	2000
CDR-enxertado	Campath	Millennium	2001
Murino	Zevalin	IDEC Pharmaceuticals and Schering AG	2002
Phage Display	Humira	Abbott Laboratories	2002
CDR-enxertado	Xolair	Genentech and Novartis	2003
Murine	Bexxar	Corixa and GlaxoSmithKline	2003
CDR-enxertado	Raptiva	Genentech and Xoma	2003
Quimérico	Erbitux	mclone and Bristol- Myers Squibb	2004
CDR-enxertado	Avastin	Genentech	2004
CDR-enxertado	Tysabri	Biogen-Idec and Elan	2004
CDR-enxertado	Lucentis	Genentech	2006
Transgênico	Vectibix	Amgen / Abgenix	2006
CDR-enxertado	Soliris	Alexion	2007

Fonte: Market Resource, 2008.

5. Referências Bibliográficas

1. Roque ACA, Lowe CR, Taipa MA. Antibodies and genetically engineered related molecules production and purification. *Biotechnol. Prog.* 2004, 639-654.
2. Casadevall A, Scharff MD. "Serum therapy" revisited: animal models of infection and the development of passive antibody therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994; 38:1695-702.
3. Casadevall A, Scharff MD. Return to the past: the case for antibody-based therapies in infectious diseases. *Clin Infect Dis.* 1995; 21:150-61.
4. Casadevall A. Antibody-Based Therapies for Emerging Infectious Diseases. *Emerging Infectious Diseases.* 1996; 200-208.
5. Wright A, Shin S-U, Morrison SL. Genetically engineered antibodies: progress and prospects. *Crit Rev Immunol.* 1992; 12:125-68.
6. Felton LD. The units of protective antibody in antipneumococcus serum and antibody solution. *J Infect Dis.* 1928;43:531-42.
7. Weisman LE, Cruess DF, Fischer GW. Opsonic activity of commercially available standard intravenous immunoglobulin preparations. *Pediatr Infect Dis. J* 1994; 13:1122-5.
8. Slade HB. Human immunoglobulins for intravenous use and hepatitis C viral transmission. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1994; 1: 613-9.
9. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature.* 1975; 256, 495-497 apud Pasqualini R, Arap W. Hybridoma-free generation of monoclonal antibodies. *PNAS.* 2004; 1, 257-259.
10. Abbas AK, Lichtman AH. *Imunologia Celular e Molecular.* 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.
11. von Mehren M, Adams GP, Weiner LM. Monoclonal antibody therapy for cancer. *Annual Review of Medicine.* 2003; 54:343-369.
12. Roitt IM, Delves PJ. *Fundamentos de imunologia.* 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
13. Waldmann TA. Effective cancer therapy through immunomodulation. *Annual Review of Medicine.* 2006; 57, 65-81.
14. Boey B, Bodey B Jr, Siegel SE, Kaiser HE. Genetically engineered monoclonal antibodies for direct anti-neoplastic treatment and cancer cell specific delivery of chemotherapeutic agents. *Curr Pharm Des.* 2000; 6(3):261-76.
15. Waldmann TA. Immunotherapy: past, present and future. *Nature Medicine.* 2003; 269-277.
16. Courtenay-Luck NS. Genetic manipulation of monoclonal antibodies apud *Monoclonal antibodies - Production, engineering and clinical application.* Ritter M, Ladyman H. eds. Cambridge: Cambridge University Press, 1995.
17. Neuberger M. Generating high-avidity human Mabs in mice. *Nat. Biotechnol.* 1996; 14, 826.
18. McArdle J. Alternatives to ascite production of monoclonal antibodies. *Animal Welfare Information Center Newsletter.* 1997; 8, 3-8.
19. Rees AR, Staunton D, Webster DM, Searle SJ, Henry AH, Pedersen JT. Antibody design: beyond the natural limits. *Trends Biotechnol.* 1994; 12, 199-206.
20. McCafferty J, Glover DR. Engineering therapeutic proteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2000; 10, 417-420.
21. Green LL. Antibody engineering via genetic engineering of the mouse: XenoMouse strains are a vehicle for the facile generation of therapeutic human monoclonal antibodies. *J. Immunol. Methods.* 1999; 231, 11-23.
22. Kortt AA, Dolezal O, Power BE, Hudson PJ. Dimetric and trimetric antibodies: high avidity scFvs for cancer targeting. *Biomol. Eng.* 2001; 18, 95-108.
23. Market Research. *The Market for Antibodies: Keys to Success for Commercial Suppliers.* [citado em jan 2008]. Disponível em: <http://www.marketresearch.com/product/display.asp?productid=1331083&g=1>.
24. Brekke OH, Sandlie I. Therapeutic antibodies for human diseases at the dawn of the twenty-first century. *Nat. Rev. Drug Discovery.* 2003; 2, 52-62.
25. Adams GP, Weiner LM. Monoclonal antibody therapy of cancer. *Nature Biotechnology.* 2005; 23:9