

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

JEISSE CLARA FELIZARDO THEOTONIO

ANTICORPOS MONOCLONAIS: BIOFÁRMACOS NO TRATAMENTO DO
CÂNCER

CUITÉ/PB

2017

UFMG/BIBLIOTECA

JEISSE CLARA FELIZARDO THEOTONIO

**ANTICORPOS MONOCLONAIS: BIOFÁRMACOS NO TRATAMENTO DO
CÂNCER**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a
Unidade Acadêmica de Saúde da Universidade
Federal de Campina Grande, como requisito
obrigatório para obtenção de título de Bacharel
em Farmácia.

Orientadora: Dra. Igara Oliveira Lima

CUITÉ/PB

2017

UFPG BIBLIOTECA



Biblioteca Setorial do CES.

Julho de 2021.

Cuité - PB

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

T397a

Theotonio, Jaisse Clara Felizardo.

Anticorpos monoclonais: biofármacos no tratamento do câncer. / Jaisse Clara Felizardo Theotonio. – Cuité: CES, 2017.

64 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCEM, 2017.

Orientadora: Dra. Igara Oliveira Lima.

1. Oncologia. 2. Biofármacos. 3. Anticorpos monoclonais. 4. Biossimilares. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCEM

CDU 616-006

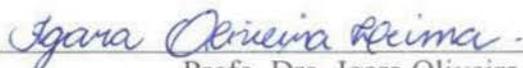
JEISSE CLARA FELIZARDO THEOTONIO

**ANTICORPOS MONOCLONAIS: BIOFÁRMACOS NO TRATAMENTO DO
CÂNCER**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Unidade Acadêmica de Saúde da
Universidade Federal de Campina Grande, para obtenção de título de Bacharel em
Farmácia.

Aprovado em 08 de março de 2017.

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Igara Oliveira Lima
Universidade Federal de Campina Grande
Orientadora



Prof. Dr. Carlos Márcio Moura Ponce de Leon
Universidade Federal de Campina Grande
Examinador



Profa. Dra. Júlia Beatriz Pereira de Souza
Universidade Federal de Campina Grande
Examinadora

Dedico este trabalho, a todos que convivem ou conviveram com o câncer, *in memoriam* a minha avó paterna Maria Rodrigues. Desejo que este trabalho demonstre que há um presente e futuro de novos estudos, terapias e esperança.

AGRADECIMENTOS

Antes que eu sonhasse, pensasse ou realizasse qualquer coisa, Deus já o tinha planejado para mim, então o maior agradecimento é para o Senhor que me ama, guia, protege e dá forças em todos os momentos.

Agradeço a minha família, pelo carinho e torcida, e por me ensinar a ter orgulho de ser quem sou, da origem simples, honesta e batalhadora, mas que, sem dúvidas, nos faz ser tão Felizardos.

A meus pais, Jorge e Mirian, por todo apoio, incentivo e luta para que eu pudesse ter as melhores oportunidades, dentro dos seus limites, mas sempre me ensinando a batalhar por meus sonhos, tendo como base a religião, o respeito ao próximo, a honestidade e a dignidade.

A minha irmã e parceira, Jéssica, por toda ajuda na vida e nas atividades acadêmicas, por acreditar mais em mim do que eu mesma, e por me mostrar que por mais diferentes que duas pessoas possam ser, são nas horas de dificuldade que vemos o valor e o real significado da palavra amor.

Agradeço, também, a meus colegas de universidade, aos professores e profissionais que conheci aos longo da vida acadêmica e dos estágios, por me ensinar lições valiosas, científicas, mas também de “conhecimentos de mundo”, os quais me fizeram não só começar a construir uma formação profissional, mas também de autoconhecimento e amadurecimento.

E por fim, agradeço a professora e orientadora Dra. Igara Oliveira Lima, por todas as oportunidades, em especial nos projetos de monitoria, e por toda a compreensão durante o desenvolvimento deste trabalho.

“Comece fazendo o que é necessário,
depois o que é possível, e de repente
você estará fazendo o impossível.”

São Francisco de Assis

RESUMO

O reconhecimento do câncer como um problema de saúde pública, corrobora para a necessidade de estudos tanto sobre sua patogênese complexa, que leva a alterações no DNA dos genes, como para as novas perspectivas clínicas de tratamento, em especial na quimioterapia, com o desenvolvimento das terapias alvo, baseadas na modulação do sistema imunológico, contra cânceres agressivos e diminuição dos efeitos citotóxicos. Destarte, o estudo teve como objetivo revisar o desenvolvimento e utilização de Biofármacos, com ênfase aos Anticorpos Monoclonais, no tratamento do câncer. Para isso, realizou-se uma pesquisa na literatura científica (nacional e internacional), de estudos experimentais ou revisões de literatura publicados entre os anos de 2001 a 2016. Foram abordados os mecanismos de patogênese do câncer e as principais alterações fenotípicas e metabólicas que se enquadram como alvos farmacológicos, e apontadas as particularidades do sistema imunológico que servem de pilar para desenvolvimento dos biofármacos. Foram descritas a estrutura e metodologias de produção dos anticorpos monoclonais, e os mecanismos de ação do Rituximabe (Linfoma Não Hodgking) e Trastuzumabe (Câncer de Mama), além das principais informações sobre sua utilização clínica, no contexto brasileiro do Sistema Único de Saúde. E, por fim, explanado o cenário atual de desenvolvimento dos biossimilares. Destacando-se, portanto, a aprovação pelo FDA de mais de duas dezenas de anticorpos monoclonais (quimérico, humanizado e humano) e seus fragmentos para o tratamento antineoplásico, com importante ressalva para os alvos farmacológicos característicos das células imunológicas, os *clusters* de diferenciação, os principais mecanismos de destruição celular por, citotoxicidade dependente de complemento (CDC); citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC); efeitos específicos na vasculatura tumoral e estroma; e indução direta da apoptose, e as relevantes metodologias de produção como os hibridomas, ratos transgênicos e *phage display* tecnológico.

Palavras-chaves: Câncer, Biofármacos, Anticorpos Monoclonais, Rituximabe, Trastuzumabe, Biossimilares.

ABSTRACT

Recognition of cancer as a public health problem, corroborates the need for studies on both its complex pathogenesis, which leads to changes in the genes DNA, and new clinical perspectives of treatment, especially in chemotherapy, with the development of Target therapies, based on modulation of the immune system, against aggressive cancers and decreased cytotoxic effects. Thus, the study aimed to review the development and use of Biopharmaceuticals, with emphasis on Monoclonal Antibodies, in the treatment of cancer. For this, a research was carried out in the scientific literature (national and international), of experimental studies or literature reviews published between the years 2001 to 2016. The mechanisms of pathogenesis of cancer and the main phenotypic and metabolic alterations that were As pharmacological targets, and pointed out the peculiarities of the immune system that serve as a pillar for the development of biopharmaceuticals. The structure and methodologies for the production of monoclonal antibodies and the mechanisms of action of Rituximab (Non-Hodking Lymphoma) and Trastuzumab (Breast Cancer) were described, as well as the main information about its clinical use in the Brazilian context of the Unified Health System. And, finally, the current biosimilars development scenario is explained. Of note, therefore, is the FDA's approval of more than two dozen monoclonal antibodies (chimeric, humanized and human) and their fragments for antineoplastic treatment, with an important exception for pharmacological targets characteristic of immune cells, differentiation clusters, The major mechanisms of cell destruction by complement-dependent cytotoxicity (CDC); Antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC); Specific effects on tumor vasculature and stroma; And direct induction of apoptosis, and relevant production methodologies such as hybridomas, transgenic mice and phage display technology.

Keywords: Cancer, Biopharmaceuticals, Monoclonal Antibodies, Rituximab, Trastuzumab, Biosimilars.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Alterações da superfície celular associadas aos tumores.....	20
Figura 2 – Destruição por mecanismos celulares das células tumorais.....	24
Figura 3 - Reação em cadeia da função imune mediada pelo estímulo de citocinas	25
Figura 4 - Exemplo-padrão da expressão de antígenos de superfície durante a maturação de linfócitos T e de linfócitos B.....	26
Figura 5 – Estrutura da IgG, subtipos e fragmentos proteolíticos.....	28
Figura 6 - Números de Produtos Biológicos aprovados pela FDA de vários tipos disponíveis para tratamento ou prevenção.....	31
Figura 7 - Tipos de anticorpos monoclonais.....	33
Figura 8 - Fragmentos de anticorpos monoclonais.....	34
Figura 9 - Mecanismos de morte de células tumorais por anticorpos.....	39
Figura 10 - Descrição do processo de fabricação passo a passo para anticorpos terapêuticos.....	40
Figura 11 - Produção de anticorpos monoclonais pela tecnologia do Híbridoma	42
Figura 12 - Técnica de produção de Anticorpos monoclonais por Xenomouse	43
Figura 13 – Seleção de genes de anticorpos em uma coleção combinatória	44
Figura 14 - Mecanismos de ação do anticorpo monoclonal quimérico Rituximabe	47
Figura 15 - Diferença entre célula normal e células neoplásicas com amplificação ou a superexpressão de HER2	49
Figura 16 - Mecanismos de ação do anticorpo monoclonal humanizado Trastuzumabe..	51

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Áreas de evidência na Terapia Global 2015.....	21
Quadro 2 - Exemplos de Agentes biológicos aprovados pela FDA.....	30
Quadro 3 - Nomenclatura de Anticorpos Monoclonais.....	34
Quadro 4 - Anticorpos Monoclonais utilizados na Terapia Oncológica.....	36
Quadro 5 - Medicamentos mais vendidos no mundo 2015.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

- Ac - Anticorpo
- ADCC - citotoxicidade celular dependente de anticorpo
- APC - Célula Apresentadora de Antígeno
- BCR – Receptor de célula B
- BCL-2 - do inglês, B-cell lymphoma 2, Linfoma de Células B 2
- CD – *cluster* de diferenciação
- CD20 – *cluster* de diferenciação 20 de células B
- CDRs – região determinante de complementariedade
- CDC - citotoxicidade dependente de complemento
- CHOP – Ciclofosfamida, Doxorrubicina, Vincristina e Prednisona
- CONITEC – Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS
- CL – região constante de cadeia leve Ig
- CH - região constante de cadeia pesada Ig
- cDNA – DNA complementares
- CTLA4 - Proteína citotóxica associada a linfócitos T 4
- DNA – ácido desoxirribonucleico
- DAMP – padrão molecular associado ao dano
- diabody - dois fragmentos scFc associados para duas especificidades diferentes
- ELISA - do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, ensaio imunoenzimático
- EMA - European Medicines Agency
- ER – receptore de estrogênio
- Fab – do inglês, *antigen binding fragmente*, região variável da Imunoglobulina
- Fc - do inglês, *constant fragmente*, região constante da Imunoglobulina
- Fv - fragmento da região variável das cadeias leve e pesada de um Ac
- FCDA - fagocitose celular dependente de anticorpo
- FDA - Food and Drug Administration
- FSH - Hormônio foliculo-estimulante,
- GH - Hormônio de crescimento humano
- GM-CSF - Fator Estimulador de Colônias de Macrófagos e Granulócitos
- G-CSF - Fator Estimulante de Colônias de Granulócitos
- GD2 - Disialogangliósido-2

HAMA – *human anti-mouse antibody*, anticorpo humanos anti- anticorpo de camundongo
HACA – human anti-chimeric antibodies anticorpo humanos anti- anticorpo quimérico
HAT - hipoxantina, aminopterina e timidina
HGPRT – enzima hipoxantina-guanina fosforribosil transferase
EGFR2/ HER2/ Neu – Receptor do fator de crescimento epidérmico humano -2
IARC - Agência Internacional de Investigação sobre o Câncer
IL - Interleucina
Ig – Imunoglobulina
IARC - Agência Internacional de Investigação sobre o Câncer
IGF – fator de crescimento semelhante a insulina
IFN – Interferon
INCA – Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva
LB - Linfócito B
LT - Linfócito T
LH - Linfomas de Hodgkin
LNH - Linfomas não-Hodgkin
LDGC B - Linfoma Difuso de Grandes Células B
LF- Linfoma Folicular
LMC - Leucemia Mieloide Crônica
mAb – Anticorpo monoclonal
MAC – Complexo de Ataque a Membrana
MHC – complexo principal de histocompatibilidade
MS – Ministério da Saúde
MΦ – macrófago
NK – Célula Natural killer
NHI - *National Cancer Institute*, Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos
PAMP – padrão molecular associado ao patógeno
PR – receptores de progesterona
RC - resposta completa
R-CHOP -Rituximabe mais Ciclofosfamida, Doxorrubicina, Vincristina e Prednisona
SBP - Produto Bioterapêutico Similar
SLD – sobrevida livre de doença
SG - sobrevida global
AIDS/SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SUS – Sistema Único de Saúde

scFv - molécula de cadeia única formada por Fv interligadas por conexão flexível

PD-1 - Receptor Programado de Morte 1

PD-L1 - Ligante 1 do PD-1

PDGFR- α - Receptor alfa de Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

RANKL - Receptor Ativador de Fator Nucleolar kappa beta ligante

SLAMF7 - Família de Moléculas de Ativação de Linfócitos de Sinalização 7

TCR - Receptor de Célula T

Th - T helper

TNF - Fator de Necrose Tumoral

VEGF - Fator de Crescimento Endotelial Vascular Humano

VL – região variável de cadeia leve de Ig

WHO/OMS – do inglês *World Health Organization*, Organização Mundial da Saúde

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo geral	17
2.2	Objetivos Específicos	17
3	METODOLOGIA	18
4	REVISÃO DE LITERATURA	19
4.1	Patogênese do Câncer	19
4.2	Tratamentos Antineoplásicos: Quimioterapia	20
4.3	Sistema Imunológico	22
4.3.1	Imunidade Inata	22
4.3.2	Imunidade adaptativa	23
4.3.2.1	Marcadores imunofenotípicos e sua utilização como alvos terapêuticos	25
4.3.2.2	Anticorpos	27
4.4	Biofármacos	28
4.5	Anticorpos Monoclonais no Tratamento do Câncer	31
4.5.1	Tipos e Fragmentos de Anticorpos monoclonais	32
4.5.2	Nomenclatura	35
4.5.3	Aplicações diagnósticas e terapêuticas	36
4.5.4	Mecanismos de morte celular mediados por Anticorpos Monoclonais	39
4.5.5.1	Metodologias de produção	40
4.5.5.2	Hibridomas	40
4.5.5.3	Ratos transgênicos	43
4.5.5.4	<i>Phage display</i> tecnológico	44
4.6	Anticorpos Monoclonais precursores na Terapia Oncológica	45
4.6.1	Rituximabe: Tratamento de Linfoma Não-Hodgkin (LNH)	46
4.6.1.1	Linfoma não-Hodgkin (LNH)	46
4.6.1.2	Rituximabe	46
4.6.2	Trastuzumabe: Tratamento do Câncer de Mama	49
4.6.2.1	Câncer de Mama	49
4.6.2.2	Trastuzumabe	50
4.7	Cenário Atual: Biossimilares	52
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
	REFERÊNCIAS	56

1. INTRODUÇÃO

A multiplicação e disseminação descontrolada e anômala de células do próprio corpo, em decorrência de alterações no DNA dos genes, caracteriza o Câncer, podendo ser resultante de causas variadas, externas, relacionam-se ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios de um ambiente social e cultural, ou internas, geneticamente pré-determinadas ao organismo, estando ambas inter-relacionadas (RANG; DALE, 2011; INCA, 2016).

Nas últimas décadas o câncer tornou-se um inquestionável, problema de saúde pública. A estimativa mundial, realizada em 2012, pelo projeto GLOBOCAN da Agência Internacional de Investigação sobre o Câncer (IARC), da Organização Mundial da Saúde (OMS), apontou que, dos 14 milhões de casos novos estimados, mais de 60% ocorreram em países em desenvolvimento, com mortalidade prevista, de aproximadamente, 8 milhões de óbitos. No Brasil, o Ministério da Saúde (MS), em conjunto com o Instituto Nacional do Câncer (INCA) aponta a ocorrência de cerca de 600 mil novos casos de câncer, entre 2016-2017 (INCA, 2015).

Nessa perspectiva, a prática clínica aprimora-se nas formas de tratamento: cirurgia, radioterapia, quimioterapia ou transplante de medula óssea, usadas em conjunto, variando apenas a importância e ordem de sua indicação (BRASIL, 2015a). Sendo dessas, a quimioterapia a principal linha de tratamento em estados avançados e agressivos. Entretanto, muitas vezes, é inevitável a recidiva da doença e, em última análise à morte do paciente, devido sobretudo, ao diagnóstico tardio e a disposição das células cancerosas a resistência a múltiplas drogas (MIMEAULT; HAUKE; BATRA, 2008).

Partindo-se da necessidade de constante busca por novas terapias contra cânceres agressivos e diminuição dos efeitos citotóxicos sobre as células saudáveis, em 1975 George Köhler e César Milstein desenvolveram o método de combinação de células tumorais à células imunes a um determinado antígeno, produzindo um clone específico - os anticorpos monoclonais (mAbs). Baseado neste conceito de terapias-alvo, foi descrito, portanto, pela primeira vez a técnica de hibridização celular somática, tendo como resultado os hibridomas ou híbridos de células formadoras de anticorpo e linhagens celulares de replicação contínua, produzidos a partir de ratos imunizados (SANTOS et al., 2006; NOBELPREIS, 2016).

Devido à essa extrema especificidade, os anticorpos monoclonais (mAbs) têm sido uma das principais estratégias do mercado biofarmacêutico, fundamentais para avanços

no campo da pesquisa médica, diagnóstico, terapias-alvo e ciência básica (PUCCA, et al., 2011). Sendo o aumento ao acesso à produtos bioterapêuticos identificado, recentemente, como uma prioridade de saúde pública global (WHO, 2016). No entanto, o grande desafio vem se mostrando em contornar a elevada tendência a imunogenicidade, desencadeantes das respostas HAMA ((*human anti-mouse antibody*), por meio de técnicas em engenharia genética, substituindo-se partes de anticorpos murinos (momabe) com componentes humanos. De tal modo que, dependendo da forma como esses anticorpos são alterados, eles podem ser chamados anticorpos quiméricos (ximabe) ou anticorpos humanizados (zumabe). Ou ainda, anticorpos totalmente humanos (umabe) (BALLOW, 2005).

Exemplos claros, das aplicações clínicas dos mAbs no tratamento do câncer são o Rituximabe, um mAb quimérico contra o antígeno CD 20 presente na superfície dos linfócitos B normais e neoplásicos (YODER, 2009) que, quando associado ao CHOP (Ciclofosfamida, Doxorrubicina, Vincristina e Prednisona), a conhecida poliquimioterapia R-CHOP, aumenta a sobrevida global dos pacientes (BRASIL, 2014), no Linfoma não Hodgkin (LNH), que tem estimativas de 5.210 novos casos em homens e 5.030 em mulheres para o Brasil, no ano de 2016 (INCA, 2015). E, o Trastuzumabe, um mAb humanizado de alta afinidade pelo HER2, receptor do fator de crescimento epidérmico-2 (LEITE, 2012), no Câncer de mama, o de maior incidência e mortalidade entre mulheres no mundo, respondendo por cerca de 25% do total dos novos casos a cada ano. No Brasil, para 2016, são esperados 57.960 novos casos, também acometendo homens, com cerca de 1% do total de casos da doença (INCA, 2015).

Mediante as alarmantes estimativas que, conseqüentemente, levam ao aumento dos custos provenientes a assistência à saúde, tornando-se cada vez mais preocupante e difícil manter um equilíbrio entre a qualidade do serviço prestado e a sustentabilidade econômica dos sistemas de saúde (HYEDA&COSTA, 2015).

A finalidade deste trabalho é, portanto, de relevância científica, social e econômica, aprofundar os conhecimentos sobre a evolução e utilização das promissoras estratégias no tratamento do câncer, tendo especial enfoque para as novas tecnologias relativas a especificidade no desenvolvimento e controle do sistema imunológico.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

- Realizar uma pesquisa bibliográfica sobre o desenvolvimento e utilização de Biofármacos (Anticorpos Monoclonais) no tratamento do câncer.

2.2 Específicos

- Descrever a patogênese do câncer e identificar as principais alterações fenotípicas e metabólicas que se enquadram como alvos farmacológicos, das neoplasias selecionadas e respectivos mAbs;
- Caracterizar as particularidades do sistema imunológico que servem de pilar para desenvolvimento dos biofármacos;
- Elucidar a estrutura e metodologias de produção dos anticorpos monoclonais;
- Apresentar os mecanismos de ação dos anticorpos monoclonais Rituximabe e Trastuzumabe;
- Vislumbrar o cenário atual, de desenvolvimento, dos biossimilares.

3. METODOLOGIA

A revisão de literatura especializada nacional e internacional fundamentou-se na busca por trabalhos publicados nos últimos 15 anos, compreendendo ao intervalo de 2001 a 2016. Os critérios de inclusão para os estudos encontrados abrangem, principalmente, terem sido publicados nos idiomas português e inglês e apresentarem dados pertinentes à temática abordada, sendo, essencialmente, resultados de estudos experimentais ou revisões de literatura.

Como fonte de busca dos artigos foram utilizadas as bases eletrônicas de dados: Cochrane Library, Scientific Electronic Library Online (SciELO), Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE), Biblioteca virtual em Saúde (BIREME), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Science Direct e o sistema de busca Google Acadêmico. Para o levantamento utilizaram-se os seguintes descritores: *immune system*, *biopharmaceuticals*, *monoclonal antibodies*, *cancer*, *breast neoplasms*, *Non-Hodgkin's Lymphoma*, *trastuzumab*, *rituximab* em diferentes combinações, além dos correspondentes em língua portuguesa.

Duas neoplasias foram selecionadas para correlações com o mecanismo de ação dos Anticorpos Monoclonais anticâncer, Câncer de Mama e Linfoma Não Hodgkin, com enfoque para utilização dos anticorpos monoclonais Trastuzumabe e Rituximabe, respectivamente, por conterem maiores evidências de resposta clínica e aprovação pela Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (CONITEC), para os Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas em Oncologia.

As referências dos estudos localizados pela estratégia de busca inicial foram analisadas com a finalidade de localizar outros estudos relevantes. Foram ainda consultados livros-texto, manuais de tratamento e conduta, editoriais, protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas, documentos de guias e consensos de agências reguladoras e sociedades de especialidades médicas e farmacêuticas nacionais e internacionais envolvidos com biofármacos e o tratamento do câncer.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Patogênese do Câncer

O câncer é a doença marcada por alterações no DNA dos genes, isto é, mutações genéticas de células do próprio corpo, decorrentes principalmente da ativação dos proto-oncogenes a oncogenes, ex., Myc e Ras, e/ou inativação anormal de genes de supressão tumoral, ex., p53 e Rb, que controlam o crescimento, a mitose e a apoptose celulares, capazes de produzir alterações em diversos sistemas, entre eles, nos fatores de crescimento, seus receptores e vias de sinalização, ex., do IGF e HER2, nos transdutores de ciclo celular, ex., ciclinas, cinases dependentes de ciclinas (cdks) ou inibidores de cdk, nos mecanismos apoptóticos, pela inativação de fatores pró-apoptóticos ou pela ativação dos antiapoptóticos, ex., BCL-2 ou ABL, na expressão de telomerase e nos vasos sanguíneos locais, resultando em angiogênese direcionada ao tumor. Tais fatores desencadeantes podem estar relacionados a causas externas, como o meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios de um ambiente social, cultural, alimentares ou ocupacionais, pela ação de agentes carcinogênicos (químicos, físicos ou biológicos), ou internas, geneticamente pré-determinadas ao organismo, estando ambas inter-relacionadas (HALL, 2011; RANG; DALE, 2011; ROITT, et al., 2013; INCA, 2016).

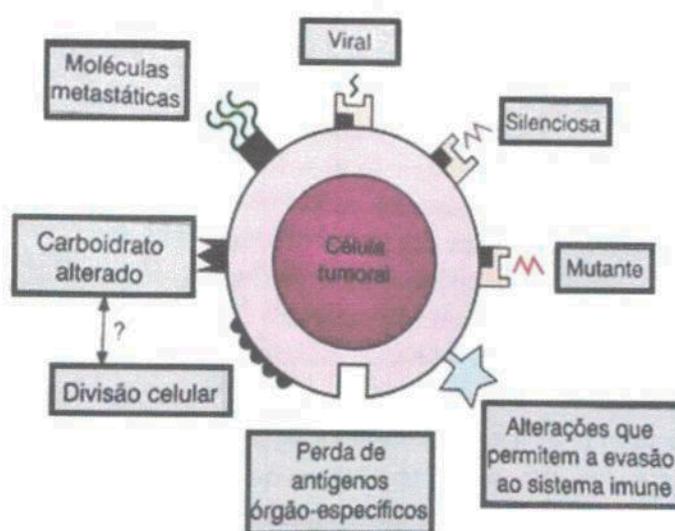
As células cancerosas se caracterizam e distinguem, portanto, das células normais pela multiplicação e disseminação descontrolada e desdiferenciada, ou seja, com perda de função, potencial invasivo de migração para tecidos subjacentes e formação de metástase, isto é, tumores secundários que atingem outros locais ao tumor primário através dos vasos sanguíneos ou sistema linfático, como resultado a desvios nos mecanismos que normalmente regulam a divisão celular e crescimento tecidual (INCA, 2008; HALL, 2011; RANG, 2011).

Entretanto, a carcinogênese é um processo complexo de multietapas que envolve, geralmente, a combinação de mais de uma alteração genética e fatores epigenéticos (hormonais, cocarcinogênicos, infecções, inflamações crônicas e efeitos de promoção tumoral, entre outros), que isoladamente não levam ao câncer, mas que aumentam as chances dessas alterações genéticas resultarem em processos neoplásicos, sejam esses benignos ou malignos (INCA, 2008; ROITT, et al., 2013).

Em contrapartida, sabe-se também que fisiologicamente, ou seja, independentemente da exposição a carcinógenos, as células sofrem processos de mutação

espontânea, resultantes de danos oxidativos, erros de ação das polimerases e das recombinases e redução e reordenamento cromossômico, que não resultam em alteração no desenvolvimento normal da população celular. Nesse contexto, considera-se a vigilância imunológica como um, importante, mecanismo de correção ou exclusão das células mutantes. A partir do reconhecimento de estruturas discriminativas novas, os antígenos tumorais, ou perda da capacidade de expressar moléculas comuns às células normais (Figura 1) (INCA, 2008; HALL, 2011).

Figura 1 - Alterações da superfície celular associadas aos tumores.



Bons exemplos são, a incapacidade de expressar moléculas de MHC classe I (exibidas normalmente na superfície de quase todas as células nucleadas); antígenos codificados por vírus oncogênicos combinados com o MHC; expressão de antígenos oncofetais, associados a estágio precoces do desenvolvimento celular, porém normalmente silenciosos, como a α -fetoproteína e o antígeno carcinoembrionário (CEA); peptídeos resultantes de mutação dos genes, como a proteína p53, a Ras e a proteína 70 do choque térmico (hsp70); e, ainda, moléculas associadas a potencial metastático como a CD44, sialil Le^x, e o HER2 expresso em quantidades aumentadas em 15% a 20% dos cânceres de mama e confere maior agressividade a estes tumores.

Fonte: ROITT et al., 2013.

4.2 Tratamentos Antineoplásicos: Quimioterapia

O tratamento eficaz do câncer baseia-se na detecção precoce, diagnóstico preciso e acesso a cirurgia, quimioterapia e/ou radioterapia. No entanto, o fornecimento acessível a medicamentos citotóxicos é um grande desafio, especialmente em locais com poucos recursos (WHO, 2016b). Nessa perspectiva, a prática clínica busca inovações e aprimoramento nas formas de tratamento: cirurgia, radioterapia, quimioterapia ou

transplante de medula óssea, usadas em conjunto, variando apenas quanto à importância e ordem de sua indicação. Atualmente, poucas são as neoplasias malignas tratadas com apenas uma modalidade terapêutica (BRASIL, 2015a), sendo este o mercado que mais cresce no mundo (Quadro 1). Habitualmente, a principal linha de tratamento em estados avançados e agressivos é a quimioterapia, que contribuiu aumentando o tempo para a progressão da doença, a sobrevivência global e a qualidade de vida dos pacientes (MIMEAULT; HAUKE; BATRA, 2008).

Quadro 1 - Áreas de evidência na Terapia Global 2015.

MERCADO GLOBAL	RANK	Vendas 2015 (US\$ bilhões)	Vendas 2014 (US\$ bilhões)
Oncologia	1	78,939	75,411
Antidiabéticos	2	71,471	63,766
Dor	3	56,191	60,175
Doenças Autoimunes	4	41,928	37,400
Anti-Hipertensivos	5	41,393	47,612
Agentes Respiratórios	6	40,037	39,544
Antibacterianos	7	38,361	40,934
Saúde Mental	8	34,870	39,181
Hepatite Viral	9	32,027	18,160
Dermatológicos	10	29,484	28,504

Fonte: Adaptado de IMS Health MIDAS®, 2015a.

Historicamente, o surgimento das pesquisas para os primeiros medicamentos quimioterápicos, tem registro da “explosão farmacológica” intercorrente à Segunda Guerra Mundial, com o gás mostarda como precursor no tratamento de linfoma avançado, pela observação acidental da diminuição da contagem leucocitária sanguínea quando a ele exposto (INCA, 2016b).

A quimioterapia antineoplásica, atual, consiste no emprego de substâncias químicas, isoladas (monoquimioterapia) ou em combinação (poliquimioterapia), baseada em protocolos de tratamento, os quais podem combinar diferentes medicamentos com diferentes mecanismos de ação, tendo como embasamento o conceito da cinética celular, a qual inclui o ciclo de vida celular, o tempo do ciclo celular, a fração de crescimento e do tamanho da massa tumoral, ou seja, a maioria dos fármacos anticâncer, em especial os citotóxicos, afetam primordialmente a divisão celular, mas não desempenham nenhum efeito inibidor específico na invasividade, na perda de diferenciação ou na tendência a metástases. Agem, portanto, de forma não específica, por atuarem indistintamente no tumor e tecidos normais de proliferação rápida, por citotoxicidade

não-seletiva, interferindo em funções bioquímicas celulares vitais, condicionando o tratamento a ciclos periódicos para a recuperação do paciente de efeitos tóxicos gerais. Sendo, portanto, a terapia de escolha, para doenças do sistema hematopoético e para os tumores sólidos, que apresentam ou não metástases regionais ou a distância (INCA, 2008; RANG; DALE, 2011).

Entretanto, muitas vezes, é inevitável a recidiva da doença e, em última análise à morte do paciente, devido, substancialmente, ao diagnóstico tardio e a disposição das células cancerosas ao desenvolvimento de resistência a múltiplas drogas (MIMEAULT; HAUKE; BATRA, 2008).

Tendo-se, atualmente, especial enfoque, para os avanços na imunologia que abriram caminho para as novas gerações de tratamentos e tecnologias antineoplásicas relativas à especificidade no desenvolvimento e controle do sistema imunológico, que envolvem anticorpos monoclonais específicos para determinantes da superfície celular expressos em determinados cânceres (ROITT, et al., 2013).

4.3 Sistema Imunológico

O Sistema imunológico, por sua vez, é essa complexa rede de órgãos (primários: medula óssea e timo; secundários: linfonodos, baço, tecido linfoide associado às mucosas e o sistema imunológico cutâneo), células e moléculas, orquestradas na finalidade manter a homeostase do organismo, combatendo as agressões em geral. A função imunológica, didaticamente, é dividida em: imunidade inata e imunidade adaptativa (CRUVINEL, et al., 2010).

4.3.1 Imunidade Inata

A imunidade inata é uma resposta rápida e pré-determinada a um grande número, no entanto, limitado de estímulos. Constituída por barreiras físicas, químicas e biológicas, células especializadas e moléculas solúveis, presentes em todos os indivíduos, independentemente de contato prévio. As principais células efetoras da imunidade inata são: macrófagos, granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos), células dendríticas e células Natural Killer (NK). Os principais mecanismos envolvidos compreendem: fagocitose, liberação de mediadores inflamatórios, ativação de proteínas do sistema complemento e síntese de proteínas de fase aguda, as citocinas e quimiocinas (CRUVINEL, et al., 2010).

Tais células e moléculas têm como principal função reconhecer padrões moleculares, “não próprios” ao organismo, que frequentemente estão associados a agentes infecciosos, ou derivadas de lesões teciduais, que representam “sinais de perigo”, por não estarem normalmente no meio extracelular, são esses os PAMPs (padrões moleculares associados a patógenos) e DAMPs (padrões moleculares associados a danos), respectivamente. Responsáveis pela ativação da resposta imune inata, por interação com os receptores de reconhecimento de padrões (PRR), seja estes solúveis, como o sistema complemento, proteína C reativa, lisozima, ou acoplados às células, como os receptores Toll-like (TLRs); os do lectina tipo C (CLR); os receptores NOD-like (NLR), de interação proteína-proteína N-terminal; e os receptores de varredura (CD14), resultando em fagocitose e ativação das vias de transdução de sinais e mobilização de moléculas efetoras que mobilizam outros componentes do sistema imune (CRUVINEL, et al., 2010; ROITT, et al., 2013).

Tal pressuposto determina um importante mecanismo de evasão das células tumorais, já que estas apresentam natureza praticamente invisível, por não conterem em sua superfície PAMPs, “representando muitas vezes o que é próprio” ao sistema imune, devido à ausência do componente infeccioso, por seu início, geralmente, de fatores ambientais (ROITT, et al., 2013).

4.3.2 Imunidade adaptativa

Em complemento à resposta inata, a resposta imune adaptativa é caracterizada por especialização de resposta, especificidade e diversidade de reconhecimento, memória, autolimitação e tolerância a componentes do próprio organismo. Depende, portanto, da ativação de células especializadas, os linfócitos, e das moléculas solúveis por eles produzidas, os anticorpos, quimiocinas e citocinas. Sendo de extrema importância a mediação para sua ativação das células apresentadoras de antígenos (APCs), os macrófagos, células dendríticas e, os próprios linfócitos B (LB) (CRUVINEL, et al., 2010).

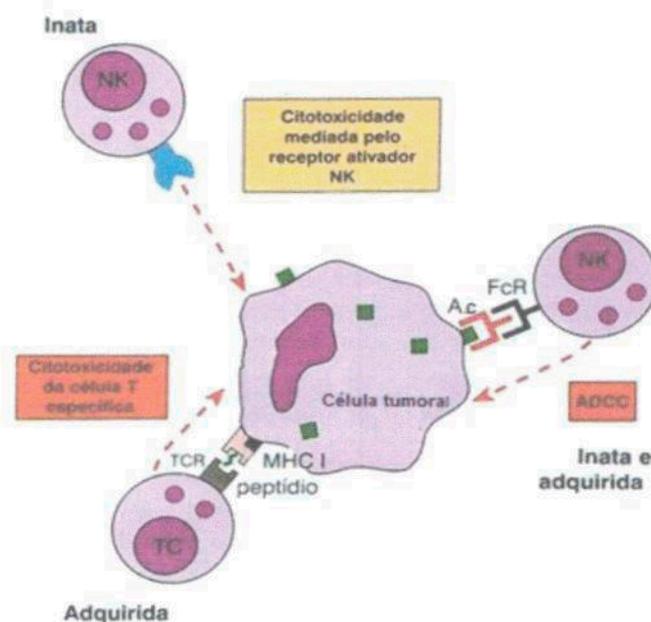
A partir de progenitores linfoides, as células que se diferenciam em LB, permanecem na medula óssea e, ao final de sua maturação, entram na circulação, migrando para os órgãos linfoides secundários. Para tal, os LB devem ser ativados, pela interação dos receptores de Linfócitos B (BCR), como o IgM e IgD, a um epítipo antigênico, o que acarreta um processo de proliferação e diferenciação, que culmina na

geração de plasmócitos com produção de imunoglobulinas (Ig), também conhecidas como anticorpos (Ac), ou seja, a imunidade humoral (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010).

As células que se diferenciam em linfócitos T (LT) deixam a medula óssea e migram para o timo, onde ocorre todo o processo de seleção e maturação até chegarem à circulação. Analogamente, expressam receptores de célula T (TCR) de reconhecimento ao antígeno (Figura 2), processados por moléculas de MHC (complexo principal de histocompatibilidade), classe I ou II, que por meio das diferenças no tipo e ativação desses receptores e da expressão, na superfície celular, de suas proteínas dividem-se em três grupos principais, células T CD8 (citotóxicos), T CD4 (auxiliares) e células de memória (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; ROITT, et al., 2013).

Outros receptores presentes em leucócitos, principalmente macrófagos e NK, com importante papel na resposta imune celular, são aqueles para frações do complemento, citocinas, interleucinas e imunoglobulinas, do tipo FcγR, essenciais na destruição das células tumorais (Figura 2). O subtipo FcγRIII (CD16) media o reconhecimento de quaisquer anticorpos ligados a antígenos tumorais pelas NK, desencadeando o processo, denominado, de citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC) (MURRAY, 2009; BUSS et al., 2012).

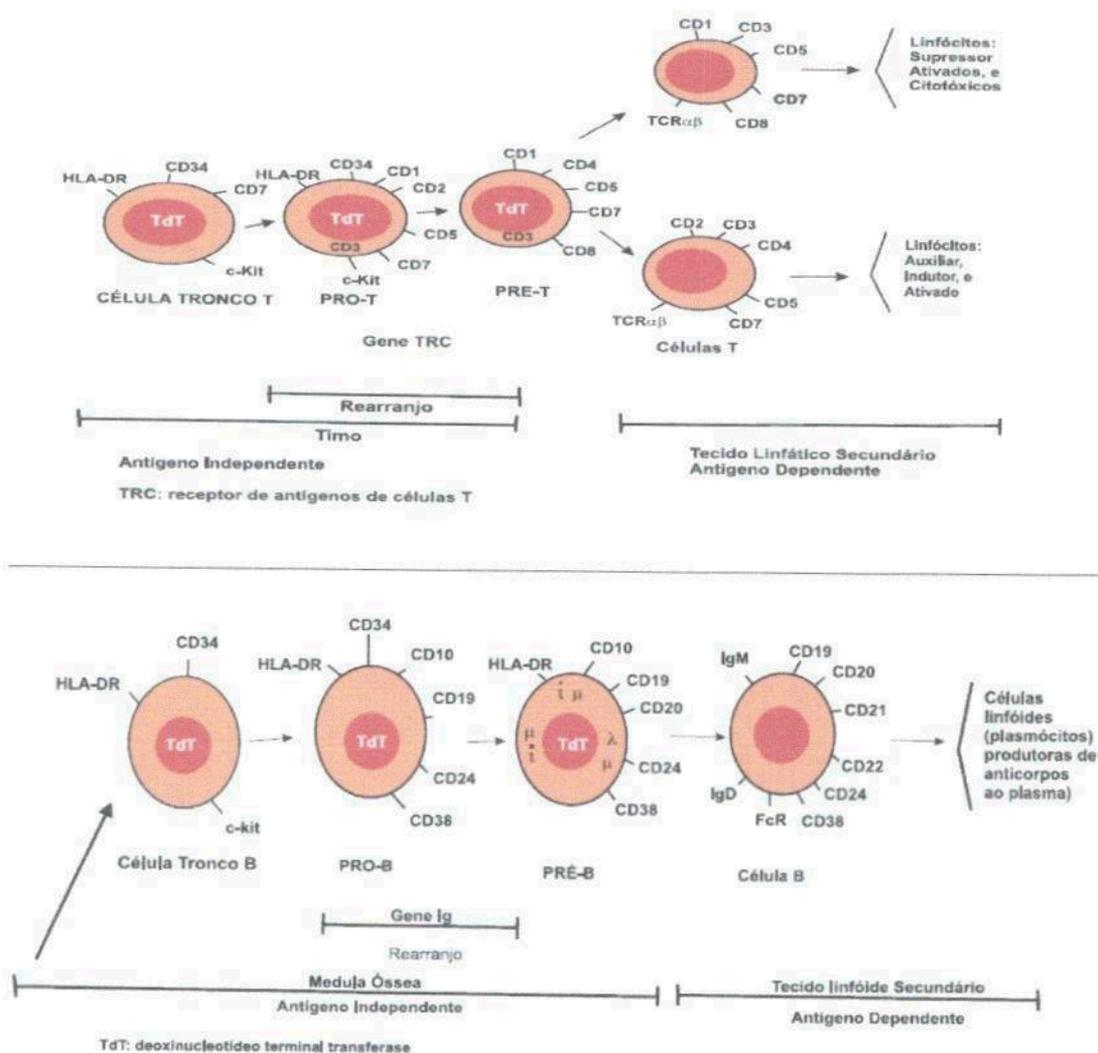
Figura 2 – Destruição por mecanismos celulares das células tumorais.



Fonte: ROITT et al., 2013.

cada um desses marcadores é atribuído uma numeração, permitindo que sejam feitos estudos sobre a distribuição e a dinâmica da linhagem dessas células (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; ABBAS et al., 2015).

Figura 4- Exemplo-padrão da expressão de antígenos de superfície durante a maturação de linfócitos T e de linfócitos B.



Fonte: NAOUM, 2001.

Ademais, monoclonais contra algumas dessas moléculas de superfície também podem ser utilizados com finalidade terapêutica, atingindo determinadas subpopulações, como pode ser observado no Quadro 4, com ênfase para o CD20 no LB, utilizado como primeiro alvo farmacológico dos anticorpos monoclonais na terapia oncológica (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010).

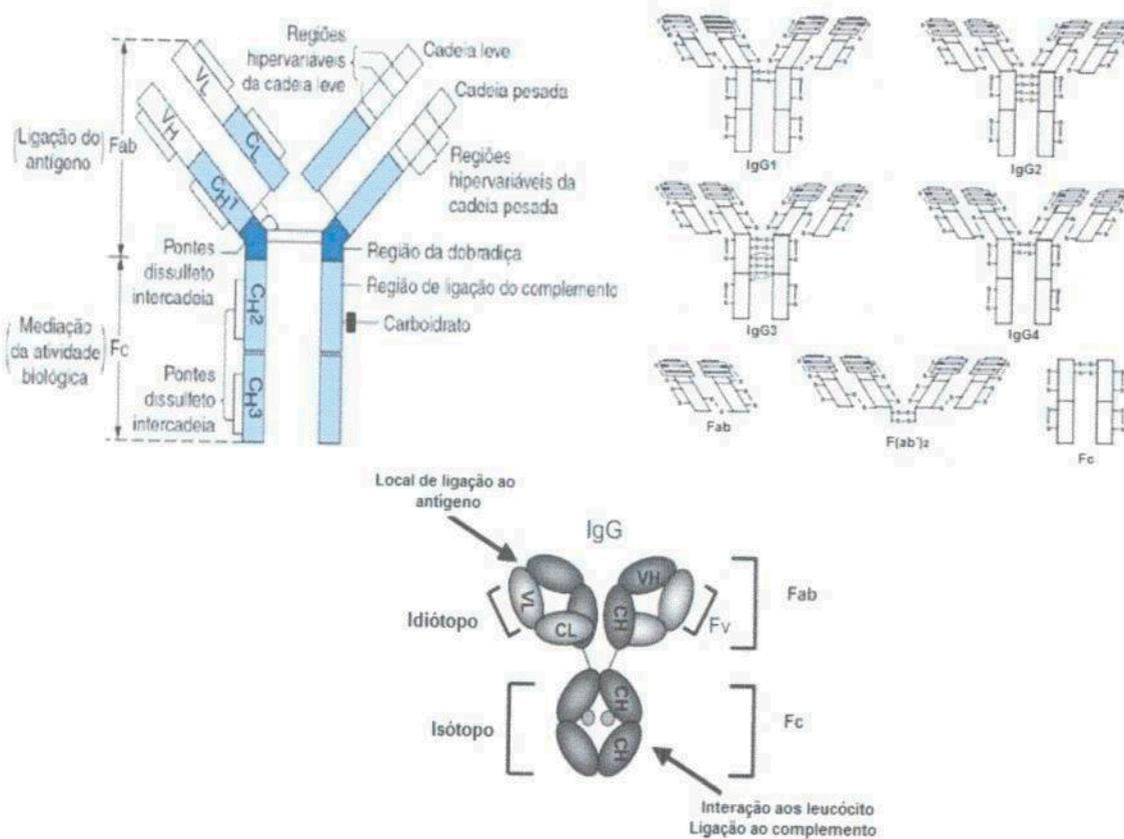
4.3.2.2 Anticorpos

Os anticorpos, aqui como protagonistas, são sintetizados pelos Linfócitos B, e correspondem a imunidade humoral. Cada célula B está programada para produzir um, e apenas um, tipo específico de anticorpo e expõe uma versão transmembrana em sua superfície, que atuam como receptores para antígenos específicos. Ou anticorpos secretados destinados à circulação, tecidos e mucosas, que se conectam a antígenos, neutralizam toxinas e evitam a entrada e disseminação de patógenos. Por meio da interação com componentes do sistema imunológico, como os fagócitos e eosinófilos, e as proteínas do sistema complemento, desencadeando a via clássica deste, pela ligação inicial da molécula C1qrs, que leva à produção das convertases C3 e C5, culminando na formação do complexo de ataque a membrana (MAC) e, consequente lise da célula tumoral ou infectada, processo esse denominado citotoxicidade dependente de complemento (CDC) (ROITT, et al., 2013; ABBAS et al., 2015).

Por sua vez cada molécula de imunoglobulina (Ig) é constituída por duas cadeias pesadas e duas cadeias leves ligadas por pontes dissulfeto. Todas as moléculas de Ac possuem a mesma estrutura básica, variando, apenas, nos cinco isótopos diferentes, dependentes dos tipos de cadeias pesadas denominadas α , γ , δ , ϵ e μ , que definem as classes de imunoglobulina IgA, IgG, IgD, IgE e IgM, respectivamente. As cadeias leves são de dois tipos, kappa (κ) e lambda (λ) (ROITT, et al., 2013). Nos seres humanos, os isótopos IgA e IgG podem ainda apresentar subtipos, intimamente relacionados, conhecidos como IgA1, IgA2, e IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 (ABBAS et al., 2015).

A especificidade de ligação ao antígeno é definida pela porção variável (Fab), constituída pela união das regiões variáveis e hipervariáveis, essas últimas, constituídas por sequências de aproximadamente 10 aminoácidos, que na estrutura tridimensional se arranjam de formar a complementar a estrutura do antígeno de ligação, por isso denominadas regiões determinantes de complementaridade (CDRs), das cadeias leve (domínios CL e VL) e pesada (VH, CH1) da imunoglobulina. A ligação às moléculas efetoras são determinadas pela porção cristalizável (Fc) de cadeia pesada (CH2 e CH3) (figura 5) (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; ROITT, et al., 2013; ABBAS et al., 2015).

Figura 5 - Estrutura da IgG, subtipos e fragmentos proteolíticos.



Fonte: Adaptado de CROMMELIN et al., 2003 e CHABNER, 2015.

4.4 Biofármacos

Demonstrando a importância, da notável evolução e utilização, de recentes e promissoras estratégias no tratamento do câncer - os biofármacos, também conhecidos como medicamentos biológicos, são moléculas complexas de alto peso molecular, produzidas por meio da biotecnologia, com a utilização de um sistema biológico vivo, podendo ser desenvolvidos de órgãos e tecidos, microrganismos, fluidos biológicos ou também de células e microrganismo geneticamente modificados ou por alteração dos genes que ocorrem devido à irradiação, produtos químicos ou seleção forçada (CARREIRA, et al., 2013; WHO, 2016a).

Desde sua introdução na década de 1980, os medicamentos biológicos se tornaram a primeira linha de tratamento de muitas doenças, como as cardiovasculares, câncer, diabetes, esclerose múltipla, doenças autoimunes como a artrite reumatoide e psoríase, rejeição de enxertos e doenças infecciosas (IAPO, 2013). A tecnologia do DNA recombinante representou um importante avanço na identificação e produção desses

medicamentos, com potentes efeitos sobre a função e o crescimento de células tanto normais quanto neoplásicas, tornando possível a preparação de grandes quantidades desses materiais altamente purificados e caracterizados (WHO, 2016a; GOODMAN&GILMAN, 2012). Sabendo que, se tratando de proteínas muito grandes e complexas – até mil vezes maiores que fármacos sintéticos –, não se dispõe de tecnologia para obtê-las por síntese química e, anteriormente ao advento de tal tecnologia, o único método conhecido de produção era o isolamento a partir de fontes naturais (REIS, et al., 2009).

As proteínas recombinantes com sequência de aminoácidos idêntica à das proteínas naturais, são os de biofármacos de primeira geração, utilizadas com a finalidade de reposição ou o aumento do níveis orgânicos. No entanto, recentemente, a grande maioria dos aprovados já é de segunda geração, sendo essas proteínas modificadas para apresentar propriedades terapêuticas diferenciadas às naturais, com maior eficiência e controle, do efeito terapêutico, e do potencial de imunogenicidade (REIS, et al., 2009; RANG, 2011). Esse último, segundo Crommelin et al., (2003), intrinsecamente relacionado a natureza da proteína (endógena / não endógena), contaminantes (p. ex., material da célula hospedeira), via de administração, dose e regime, formulação, doença e medicação concomitante e, design do bioensaio.

Diante desse cenário atual, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabelece limites de abrangência da regulamentação no registro desses medicamentos, objetivando que as particularidades de cada categoria sejam avaliadas e especificadas na legislação. Dessa forma, os medicamentos biológicos abrangem sete categorias de produtos: Alérgenos, Anticorpos monoclonais, Biomedicamentos, Hemoderivados, Probióticos e Vacinas (BRASIL, 2016)

Exemplos, atualmente, já aprovados pelos órgãos reguladores como FDA (*Food and Drug Administration*), EMA (*European Medicines Agency*) e ANVISA, e como alvo de estudos clínicos estão destacados no Quadro 2.

Sabe-se, no entanto, que o número total de prescrições para produtos biológicos é relativamente modesto, em comparação aos medicamentos sintéticos, visto que seu desenvolvimento e produção estão associados a custos significativos (EPSTEIN, EHRENPREIS, KULKARNI, 2014), figura 6. Entretanto, a IMS Health, estima que em 2017 venham a representar cerca de 20% (US\$ 220 bilhões) do mercado global de medicamentos, uma vez que, dentre as diferentes categorias, os biológicos são os que apresentam a maior taxa de crescimento (ABIFINA, 2013). Desses, os anticorpos

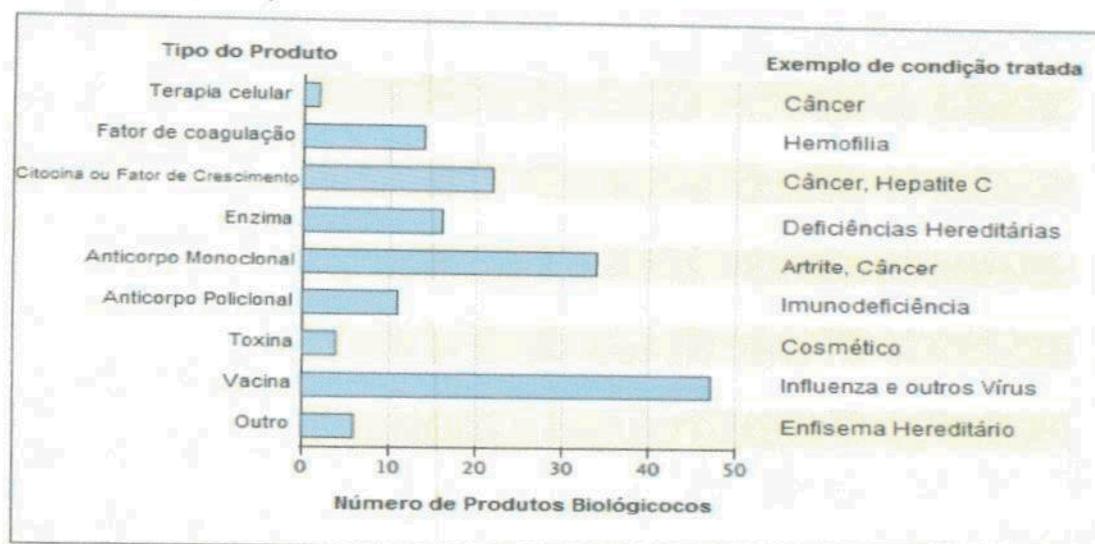
monoclonais representam mais de 30% de todas as proteínas biológicas submetidas a ensaios clínicos e são a segunda maior classe de drogas imunobiológicas, após as vacinas (AIRES SILVA et al., 2008).

Quadro 2 - Exemplos de Agentes biológicos aprovados pela FDA.

<p>CATEGORIAS DE AGENTES BIOLÓGICOS</p> <p>Citocinas Interferon-α, Interleucina-2, Interferon-β</p> <p>Fatores de Crescimento Hematopoiético Eritropoietina, Fator Estimulante de Colônias de Granulócitos (G-CSF), Fator Estimulador de Colônias de Macrófagos e Granulócitos (GM-CSF)</p> <p>Hormônios Hormônio folículo-estimulante (FSH), glucagon, Gonadotrofina Coriônica humana, Hormônio de crescimento humano (GH), insulina, tiotropina do Crescimento, Insulina</p> <p>Fatores de Crescimento Fator de crescimento semelhante a Insulina (IGF), Proteínas Morfogenéticas Ósseas</p> <p>Fatores de Coagulação Sanguínea Recombinantes Fator VII, Fator VIII, Fator IX</p> <p>Enzimas Fator Ativador de Plasminogênio, Glucocerebrosidase, enzimas pancreáticas, DNase</p> <p>Vacinas Recombinante contra a Hepatite B, proteínas da cápside principal do papilomavírus humano</p> <p>Proteínas de Fusão Proteína de fusão da toxina diftérica - IL 2, Proteína de fusão do receptor humano do TNFα-Imunoglobulina G Fc (Etanercept)</p> <p>Anticorpos Monoclonais e Imunoconjugados Trastuzumabe, Rituximabe, Gemtuzumabe, Bevacizumabe Ibritumomabe tiuxetan, Denileucina diftitox, Iodo-131 tositumomabe, Gemtuzumabe ozogamicina</p>
--

Fonte: Adaptado de EPSTEIN, EHRENPREIS, KULKARNI, 2014; GOODMAN&GILMAN, 2012 e CROMMELIN et al., 2003.

Figura 6 - Números de Produtos Biológicos aprovados pela FDA de vários tipos disponíveis para tratamento ou prevenção.



Fonte: Adaptado de KOZLOWSKI, 2011.

Na quimioterapia do câncer, os biofármacos incluem agentes ou abordagens biológicas que afetam de modo benéfico a resposta biológica do paciente a determinada neoplasia, denominados de imunoterapia. Incluídos, nessa categoria, agentes que atuam indiretamente para mediar seus efeitos antitumorais (p. ex., intensificando a resposta imunológica às células neoplásicas) ou diretamente sobre as células tumorais (p. ex., agentes de diferenciação). Dentre esses, já aprovados para uso clínico, pode-se citar a Interferon- α para tratamento da leucemia de células pilosas, condilomas acuminados, Leucemia Mieloide Crônica (LMC) e Sarcoma de Kaposi associado à AIDS; a Interleucina-2 (IL-2) para o câncer de rim; a denileucina difitox, uma imunotoxina para o linfoma de células T cutâneos recorrentes/refratários; o trastuzumabe para o câncer de mama; e o rituximabe para linfomas de células B (GOODMAN&GILMAN, 2012).

4.5 Anticorpos Monoclonais no Tratamento do Câncer

A partir desta evolução nos conhecimentos de ordem molecular e reafirmando, por conseguinte, a necessidade de constante busca por novas terapias contra cânceres agressivos e visando, também, a diminuição dos efeitos citotóxicos sobre as células saudáveis, base do conceito das terapias-alvo, em 1975 George Köhler e César Milstein desenvolveram um método para a combinação de células tumorais com as células que são imunes a um determinado antígeno, produzindo um clone específico - os anticorpos

monoclonais (mAbs), lhes rendendo o prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina de 1984 (NOBELPREIS, 2016). Nesse contexto, foi possível produzir em larga escala, nos laboratório, tais anticorpos, específicos para uma única região do antígeno (epítipo) (BRASIL, 2014).

Devido à essa extrema especificidade, os mAbs têm sido uma das principais estratégias do mercado biofarmacêutico, conhecidas como drogas imunobiológicas (IBD), fundamentais para avanços analíticos no campo da pesquisa médica, diagnóstico, terapias- alvo e ciência básica (PUCCA, et al., 2011).

No entanto, apesar da técnica ter sido descrita em 1975, seu uso clínico, diagnóstico e terapêutico iniciou-se após a associação com a engenharia genética, com o grande desafio de contornar a elevada tendência a imunogenicidade, ou seja, a capacidade de induzir e reagir a uma resposta imunológica, desencadeantes das respostas HAMA (*human anti-mouse antibody*), já que os anticorpos de camundongos (anticorpos murinos) são “vistos” pelo sistema imune como estranhos, o que causa não só a rápida eliminação destes anticorpos pelo hospedeiro como também a formação de complexos imunes, que podem acarretar em reações imunes e de hipersensibilidade, como a Doença do Soro. Além da constatação, de que os mAbs murinos são relativamente pobres recrutadores de função efetora, que pode ser crítico para o seu uso clínico, especialmente em indicações oncológicas. Dessa forma, o uso da engenharia genética, como a dos DNAs complementares (cDNAs), que codificam as cadeias polipeptídicas de um mAb, podem ser isolados de um hibridoma, e os genes manipulados *in vitro*, possibilitando a produção de anticorpos desnudos (humano-camundongo híbridos), os anticorpos quiméricos ou humanizados (BALLOW, 2005; SANTOS et al., 2006; BUSS et al., 2012; ABBAS, 2015).

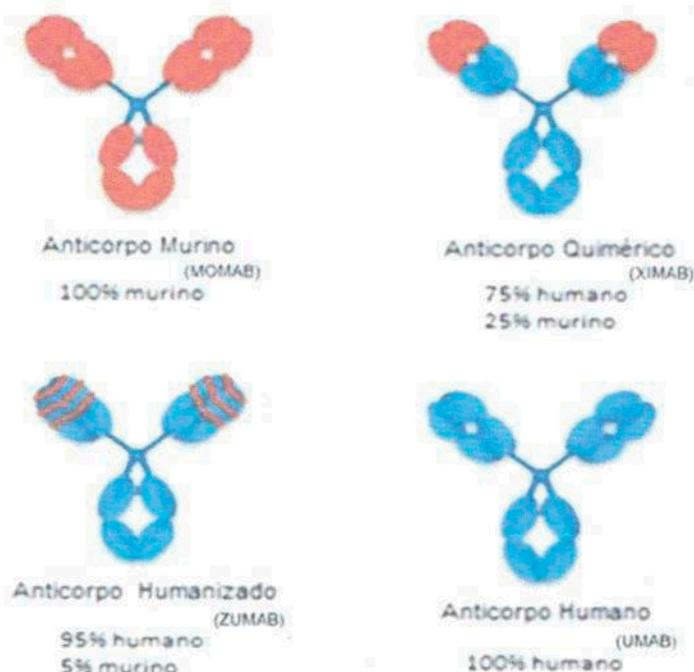
4.5.1 Tipos e Fragmentos de Anticorpo Monoclonal

Os mAbs utilizados na terapêutica são, geralmente, das subclasses IgG ou IgM, e podem ser utilizados isoladamente (não conjugados) ou em combinação (conjugados) com outros agentes terapêuticos, como radioisótopos, toxinas, enzimas ou fármacos citotóxicos (DEL DEBBIO, TONON, SECOLI, 2007).

A organização estrutural do anticorpo permite que segmentos de DNA, que codificam os locais de ligação do antígeno de um anticorpo monoclonal murino, sejam inseridos no cDNA que codifica a proteína do mieloma humano. O anticorpo **quimérico** (ximabe) é, portanto, o anticorpo que apresenta a combinação da região variável do

anticorpo de camundongo, com a região constante do anticorpo humano. Este avanço permitiu que as resposta contra anticorpos monoclonais quiméricos HACA (*human anti-chimeric antibodies*) fossem mais baixas que as percentagens HAMA, no entanto, ainda sendo necessária a diminuição do potencial imunogênico. Foram, desenvolvidos, portanto, o anticorpo **humanizado** (zumabe), concebido por meio do processo conhecido como Transplante de CDRs (do inglês *Complementary Determining Regions*), de um anticorpo murino para porções intercaladas do arcabouço das regiões variáveis das cadeias pesada e leve de origem humana, ou seja, apresenta somente as regiões hipervariáveis do anticorpo de camundongo, e o restante de moléculas de anticorpo humano, criado a partir de gene híbrido, que quando expresso, a proteína híbrida resultante, retém a especificidade antigênica do monoclonal murino original, mas com estrutura Ig humana. E por fim, pelos avanços na biotecnologia, é possível a produção de anticorpos **totalmente humanos** (umabe), derivados de métodos de apresentação ou em camundongos com células B expressando transgenes humanos de Ig. Permitindo a construção de anticorpos monoclonais sob medida para o sítio de ligação, mas com possíveis variações no tamanho, configuração, valência, farmacocinética, mecanismos de ação, potencial imunogênico reduzido e propriedades semelhantes às IgG endógenas humanas (Figura 7) (BALLOW, 2005; SANTOS et al., 2006; BUSS et al., 2012; ABBAS, 2015).

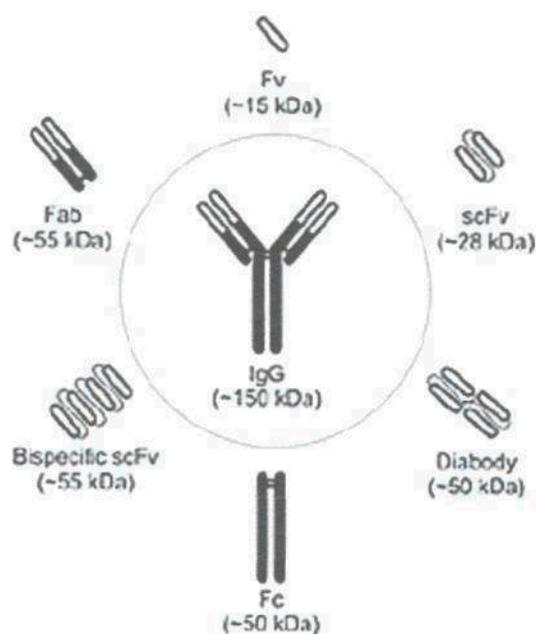
Figura 7 - Tipos de anticorpos monoclonais.



Fonte: Adaptado de BUSS et al., 2012.

Pesquisas promissoras em engenharia genética, vêm sendo desenvolvidas usando fragmentos desses anticorpos em vez de toda a molécula, já que estes são moléculas grandes (~ 150 kDa), e pequenos fragmentos derivados de IgG, podem ser obtidos por meio da clivagem pela papaína e pepsina. Podem ser construídos para atividade de ligação ao antigênico, a exemplo dos fragmentos, Fab, scFv (molécula de cadeia única formada pelas regiões variáveis das cadeias leve e pesada de um Ac interligadas por uma conexão flexível), Fv (fragmento da região variável das cadeias leve e pesada de um Ac) e os *bispecifics*, que compreendem um grupo diverso de terapias baseadas em mAb que pode ter múltiplas funcionalidades diferentes, por meio de domínios de ligação para interação com dois antígenos alvo, dentro da mesma construção, como os *diabody* (dois fragmentos scFc associados para duas especificidades diferentes). Ou o fragmento constante Fc, que modula as funções dos efetores (Figura 8). Estes pequenos anticorpos (~ 15-55 KDa) podem ser equipados com radioisótopos ou outros marcadores com o objetivo de localizar antígenos alvo ou empregados na terapia. Tais moléculas, também, apresentam as vantagens de rápida circulação no sangue, boa penetração nos tecidos e tumores alvo, baixa imunogenicidade em teoria, baixa retenção nos rins e outros órgãos não-alvo, além de serem mais facilmente construídos e reestruturados e, portanto, menor custo comercial na produção em larga escala (ROQUE et al., 2004; PUCCA, et al., 2011; BUSS et al., 2012; ROITT, et al, 2013).

Figura 8 - Fragmentos de anticorpos monoclonais.



Fonte: Adaptado de PUCCA, et al., 2011.

4.5.2 Nomenclatura

A nomenclatura dos mAbs segue uma sequência de prefixo do nome, sílaba que representa o alvo, depois a fonte e, finalmente, a sílaba mab (de *monoclonal antibody*) (Quadro 3) e, deve ser utilizado para todos os produtos que contenham imunoglobulina que se liga a um alvo definido (AGONDI et al., 2009).

Quadro 3 - Nomenclatura de Anticorpos Monoclonais

Prefixo¹ (exemplo)	Alem (Alemtuzumab) Ri (Rituximab) Ab (Abciximab) Oma (Omalizumab) Mepo (Mepolizumab)
Alvo²	Tumor – t(u) – Imunomodulador – l(i) – Interleucina – k(i) – Cardiovascular – c(i) – Bacteriano -b(a) – Fungos -f (u) – Osso -s(o) – Toxina - tox(a)- Viral -v(i) –
Fonte	Murino – o Rato – a Rato/camundongo – axo Primata – i Hamster - e Quimérico – xi Humanizado – zu Totalmente humano – u/um
Sufixo³	mabe (anticorpo monoclonal)
Conjugados	Produto radiomarcado ou conjugado com outro produto químico, é utilizada uma segunda palavra separada ou a designação química. Exemplos: mAbs conjugados a toxina, o sufixo –tox- pode ser usado na segunda palavra; mAb utilizado como veículo para um radioisótopo, este será listados primeiro p. ex., Iodo-131 tositumomabe.

¹Deve ser aleatório, o único requisito é contribuir para a distinção do nome; ²Indica a classe alvo (molécula, célula, órgão); ³A língua portuguesa exige o acréscimo da vogal e.

Fonte: Adaptado de WHO, 2009.

4.5.3 Aplicações diagnósticas e terapêuticas

De acordo com Tyagi et al. (2011) e Abbas et al., (2015), algumas das principais aplicações na pesquisa e diagnóstico médicos e na terapia clínicas de anticorpos monoclonais incluem:

Identificação de marcadores fenotípicos únicos aos tipos celulares particulares. A classificação moderna de linfócitos e outros leucócitos baseia-se no reconhecimento dos marcados celulares individuais, os *clusters* de diferenciação (CD), por mAbs específicos, caracterizando as populações celulares;

Imunodiagnóstico. Utilização de mAbs em imunoenaios, para detecção de antígenos ou anticorpos específicos no sangue, urina ou tecidos, no diagnóstico de doenças infecciosas e sistêmicas, como as autoimunes, por técnicas de imunoprecipitação e cromatografia de afinidade;

Identificação tumoral. Coloração de secções tumorais histológicas, por meio de mAbs marcados e específicos para proteínas celulares nas fontes teciduais de tumores;

Análise funcional da superfície celular e moléculas secretadas. A definição das propriedades e funções das moléculas de superfície, incluindo receptores para antígenos, podem ser elucidadas por meio do estímulo ou inibição de funções celulares mediante a ligação à mAbs. Além da purificação de populações celulares selecionadas em misturas complexas, devido ligação específica a anticorpos monoclonais;

Terapia. Em decorrência da evolução da pesquisa médica na identificação de células e moléculas envolvidas na patogênese de muitas doenças, forneceram novos alvos a terapia com anticorpos monoclonais. Alguns exemplos incluem mAbs contra antígenos de células tumorais (Quadro 4). Utilizados, também, na prevenção da rejeição aguda de Transplantes, a exemplo do Basiliximabe e do Daclizumabe. Anticorpos, como o Infliximabe e Adalimumabe, contra as citocinas IL-2 e Fator de Necrose Tumoral (TNF), no tratamento da artrite reumatoide e outras doenças inflamatórias. Ou ainda, como Omalizumabe, mAb humanizado contra a imunoglobulina E, na asma mediada pela IgE, também já estão sendo amplamente utilizados.

Quadro 4 - Anticorpos Monoclonais utilizados na Terapia Oncológica

Nome Genérico e Comercial	Ano de Aprovação no FDA	Tipo	Alvo	Uso Clínico pelo FDA
Rituximabe Mabthera [®] Rituxan [®]	1997	Quimérico IgG1	CD20	Linfoma de células B
Trastuzumabe Herceptin [®]	1998	Humanizado IgG1	HER2	Câncer de mama
Gemtuzumabe ozogamicina Mylotarg [®]	2000	Humanizado IgG4 – fármaco conjugado	CD33	Leucemia mieloide aguda
Alemtuzumabe Campath [®]	2001	Humanizado IgG1	CD52	Leucemia linfática crônica
⁹⁰ Y-Ibritumomabe tiuxetana Zevalin [®]	2002	Murino IgG1- radionuclideo -conjugado	CD20	Linfoma de células B
¹³¹ I- tositumomabe Bexxar [®]	2003	Murino IgG1- radionuclideo conjugado	CD20	Linfoma de células B
Bevacizumabe Avastin [®]	2004	Humanizado IgG1	VEGF	Câncer de colorretal
Cetuximabe Erbix [®]	2004	Quimérico IgG1	EGFR	Câncer de colorretal
Panitumumabe Vectibix [®]	2006	Humano IgG2	EGFR	Câncer de colorretal
Ofatumumabe Arzerra [®]	2009	Humano IgG1	CD20	Leucemia linfocítica crônica sem tratamento e Refratária
Denosumabe Prolia [®] , Xgeva [®]	2010	Humano IgG2	RANKL	Tumor de células gigantes do osso
Ipilimumabe Yervoy [®]	2011	Humano IgG1	CTLA4	Melanoma avançado em adultos.
Brentuximabe vedotin Adcetris [®]	2011	Quimérico IgG1	CD30	Linfoma de Hodgkin Linfoma anaplásico de grandes células
Pertuzumabe Perjeta [®]	2012	Humanizado IgG1	HER2	Tratamento Neoadjuvante de Câncer da Mama, Metastizado.
Ado Trastuzumabe Emtansine Kadcyla [®]	2013	Humanizado IgG1 – fármaco conjugado	HER2	Câncer de mama

Obinutuzumabe Gazyva®	2013	Humanizado IgG1	CD20	Leucemia Linfocítica Crônica
Ramucirumabe Cyramza®	2014	Humano IgG1	VEGR-2	Carcinoma Gástrico avançado, Adenocarcinoma da Junção Gastroesofágica
Siltuximabe Sylvant®	2014	Quimérico IgG1κ	IL-6	Doença de Castleman multicêntrica HIV- neg
Blinatumomabe Blincyto®	2014	Recombinant e Biespecífico	CD19/ CD3	Tratamento de cromossomo Filadélfia-neg precursor de Leucemia Linfoblástica Aguda de cél. B
Nivolumabe Opdivo®	2014	Inteiramente Humano IgG4	PD-1	Melanoma; Câncer do pulmão; Carcinoma de células renais; Linfoma de Hodgkin clássico.
Elotuzumabe Empliciti®	2015	Humanizado IgG1κ	SLAMF7	Mieloma Múltiplo
Dinutuximabe Unituxin®	2015	Quimérico IgG1	GD2	Neuroblastoma de alto risco
Necitumumabe Portrazza®	2015	Humano IgG1	EGFR	Carcinoma do Pulmão de não Pequenas Células
Daratumumabe Darzalex®	2015	Humano IgG1κ	CD38	Mieloma Múltiplo
Atezolizumabe Tecentriq®	2016	Fragmento humano Fc otimizado	PD-L1	Carcinoma do Pulmão de não Pequenas Células metastáticas
Olaratumabe Lartruvo®	2016	Humano IgG1	PDGFR- α	Sarcoma de Tecidos Moles

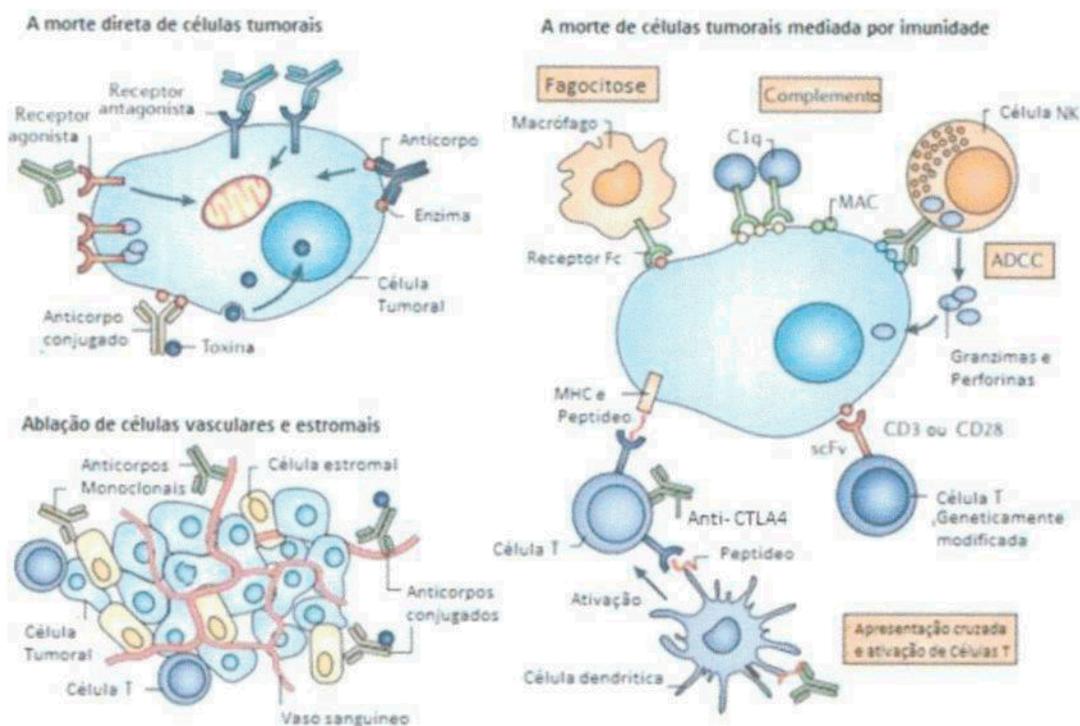
CTLA4: Proteína citotóxica associada a linfócitos T 4; EGFR: Receptor de fator de Crescimento Epidérmico; GD2: Disialogangliósido-2; PD-1: Receptor Programado de Morte 1; PD-L1: Ligante 1 do PD-1; VEGF: Fator de Crescimento Endotelial Vascular Humano; PDGFR-α: Receptor alfa de Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas; RANKL: Receptor Ativador de Fator Nucleolar kappa beta ligante; SLAMF7: Família de Moléculas de Ativação de Linfócitos de Sinalização 7.

Fonte: Adaptado de ZHANG et al., 2007; NELSON et al., 2010; SCOTT, WOLCHOK, OLD, 2012; NIH, 2015, FDA, 2016, EMA, 2016.

4.5.4 Mecanismos de morte celular mediados por Anticorpos Monoclonais

O potencial para a destruição dessas células tumorais intermediada por anticorpos tem sido fartamente demonstrado *in vitro* (Figura 9), neutralizando alvos solúveis (p. ex., citocinas); através de alterações mediadoras na função do antígeno ou do receptor, tais como funções agonistas ou antagonistas, influenciando na sinalização celular (ação direta) ou interferindo diretamente no crescimento celular (inibição da proliferação); na modulação do sistema imunológico, mediando funções efetoras imunes (mecanismos “Fc dependentes” de interação ao Fc γ R dos leucócitos), por meio da fagocitose celular dependente de anticorpo (FCDA); na ativação do sistema complemento, caracterizada como citotoxicidade dependente de complemento (CDC); na citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC); efeitos específicos de um anticorpo na vasculatura tumoral e estroma; ou ainda desencadeando processos de morte celular, por indução direta da apoptose, ou por crosslinking. Estando ou não conjugado a administração de um fármaco que atinge um antígeno específico (GOODMAN&GILMAN, 2012; SCOTT, WOLCHOK, OLD, 2012; MORAES, 2013).

Figura 9 - Mecanismos de morte de células tumorais por anticorpos.

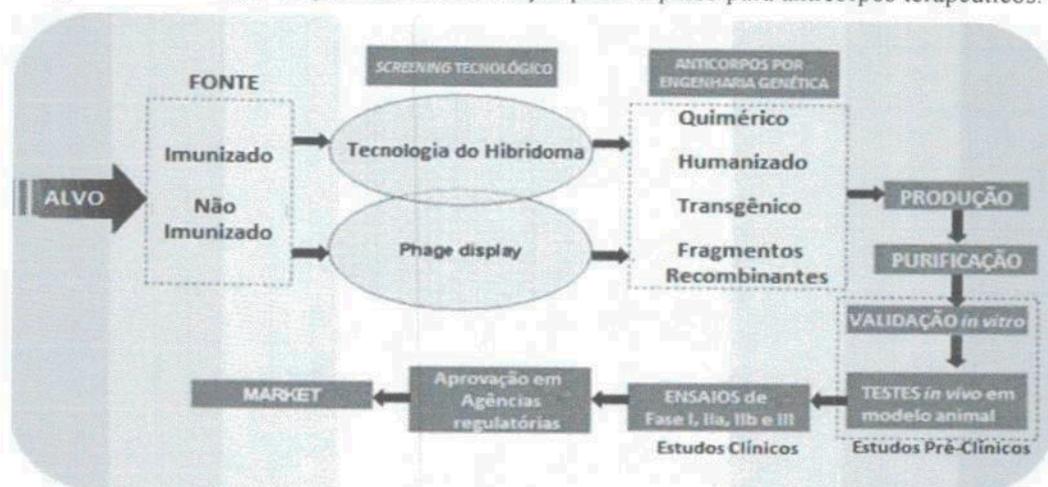


Fonte: Adaptado de SCOTT, WOLCHOK, OLD, 2012.

4.5.5 Metodologias de produção

Os processos para gerar e pesquisar anticorpos com afinidade e especificidade, para um antígeno alvo, podem envolver técnicas de hibridoma e/ou fagos, a partir de fontes imunizadas ou não imunizadas. Anticorpos ou fragmentos selecionados podem então ser manipulados para criar novas estruturas semelhantes a anticorpos. Após purificação da molécula de anticorpo de interesse para um nível de pureza elevado, este produto pode prosseguir para estudos pré-clínicos (modelos animais *in vitro* e *in vivo*). Se estes forem bem sucedidos, o anticorpo terapêutico iniciasse ensaios clínicos humanos e pode finalmente obter a aprovação de agências reguladoras (FDA, EMA, ANVISA) e ser lançado no mercado (ROQUE et al., 2004).

Figura 10 - Descrição do processo de fabricação passo a passo para anticorpos terapêuticos.



Fonte: Adaptado de ROQUE et al., 2004.

4.5.5.1 Hibridomas

A técnica do hibridoma (Figura 11) consiste, inicialmente, na imunização do animal com o antígeno que induzirá a produção de anticorpos de interesse. Posteriormente, tem-se a retirada dos linfócitos B ativados do baço do animal, ou seja, os esplenócitos de camundongos, que apresentam baixa taxa de reprodução *in vitro*, porém são altamente excretoras de anticorpos e tem uma síntese de nucleótidos normal. Em seguida, procede-se a fusão com células de mieloma ou plasmocitoma, que como a maioria dos tumores de qualquer origem celular, é monoclonal, mas possui uma síntese de nucleótidos deficiente (LING et al., 2003; BAHARA et al., 2013; HARMAN, GILES-KOMAR, RYCYZYN, 2014; CORDEIRO et al., 2014; ABBAS et al., 2015).

Para esta fusão podem ser utilizadas técnicas física, de armadilha óptica de força gradiente de um único feixe combinada com um micro feixe de laser UV pulsado, para fusão de células induzidas por laser (TYAGI et al., 2011); química, com polietilenoglicol (PEG) ou cefalina (GOLESTANI et al., 2007); ou ainda, eletroquímica, onde o potencial elétrico é aplicado para induzir a fusão celular, conhecido como eletro fusão, mas que está dependente de fatores de resistência e força osmótica a composição iônica, do meio de fusão, e da intensidade de campo e da força proteolítica (TYAGI et al., 2011).

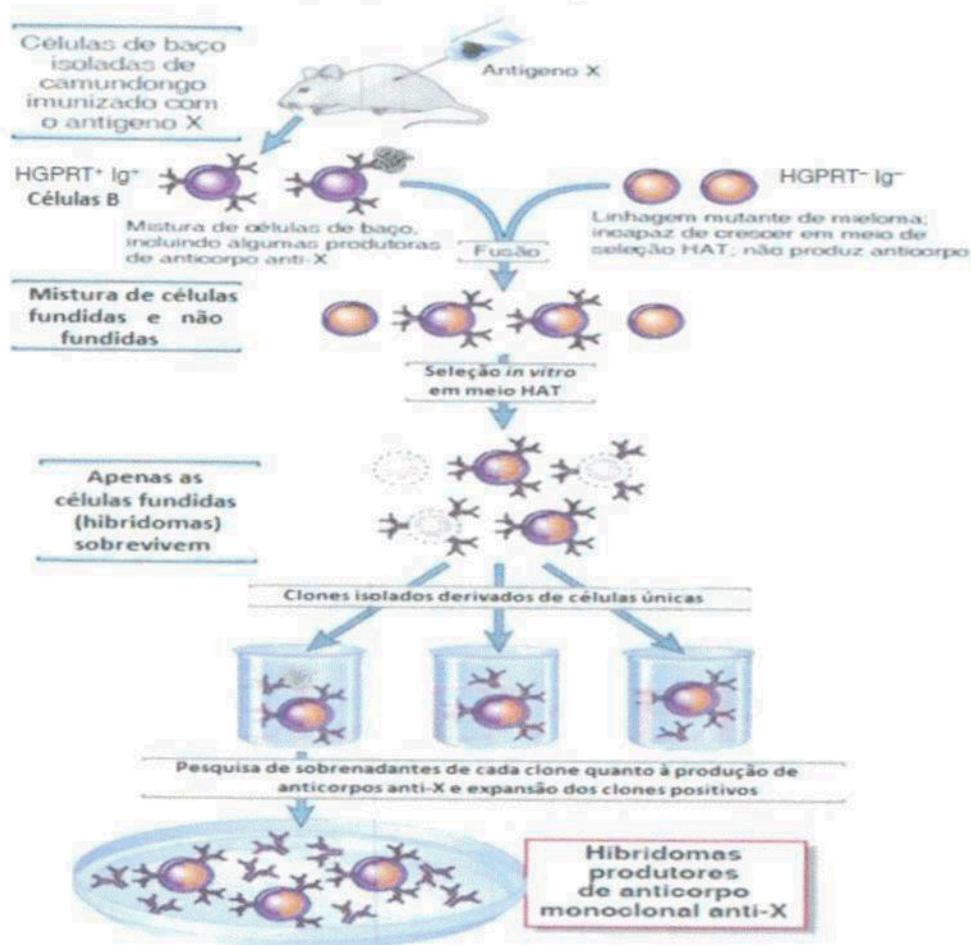
Depois da fusão, três populações de células permanecem em cultura: esplenócitos, células do mieloma e os híbridos. Essas são diluídas em meio de cultura seletivo, o HAT (hipoxantina, aminopterina e timidina), e plaqueadas em placas de cultura de múltiplos poços. Objetiva-se, portanto, selecionar a linhagem celular de replicação contínua, pois na divisão de células somáticas, só as células fundidas (hibridomas) podem crescer (PASQUALINI, ARAP, 2004; SANTOS et al., 2006; CORDEIRO et al, 2014).

Isso ocorre porque as células normais sintetizam nucleotídeos de purina e timidilato, por uma via *de novo* que requer tetraidofolato. Drogas antifólicas, como a aminopterina, metotrexato ou azaserina, bloqueiam esta via. Portanto, células tratadas com esses compostos podem usar uma via de recuperação na qual a purina é sintetizada de hipoxantina exógena, por meio da hipoxantina-guanina fosforribosil transferase (HGPRT), e o timidilato é sintetizado da timidina pela timidina cinase (TK). Assim, as células crescem na presença de aminopterina se o meio de cultura também for suplementado com hipoxintatina e timidina, no caso o meio de seleção HAT. As células de mieloma podem torna-se defeituosas em HGPRT ou TK, mediante a mutagênese, seguida de seleção em um meio que contenha substratos para essas enzimas que levem à produção de substâncias letais. Essas células de mieloma que não possuem HGPRT ou TK não podem usar a via de recuperação e, conseqüentemente, morrerão no meio HAT. Se células B normais forem unidas às células que não possuem HGPRT ou TK, essas fornecerão as enzimas necessárias para que os híbridos sintetizem DNA e cresçam no meio HAT (GREENFIELD, 2014; ABBAS, 2015).

Em seguida, aguarda-se a morte natural dos esplenócitos, já que eles não podem crescer indefinidamente, pelo tempo médio de vida limitado. Os híbridos são capazes de crescer indefinidamente e começam a se multiplicar, com formação rápida de colônias. As células do hibridoma imortalizadas, colocados em placas de cultura com densidades diferentes por poço, fazendo com que as células de cada poço sejam clone de apenas um hibridoma, os poços positivos são expandidos e os hibridomas clonados por propagação,

os sobrenadantes são testados quanto à produção de anticorpos, verificando sua capacidade de se ligar ao antígeno pelo ELISA (do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), garantindo a especificidade dos anticorpos. Dessa forma, podem ser produzidas grandes quantidades de anticorpo específico *in vitro* (em meios de cultura) (PASQUALINI, ARAP, 2004; SANTOS et al., 2006; CORDEIRO et al, 2014; GREENFIELD, 2014). Em contrapartida, a resposta policlonal observada *in vivo*, constituída pela combinação de anticorpos de todos os clones celulares plasmáticos que reagiram ao antígeno específico. Tornando, assim, possível usá-los como fármacos (AIRES SILVA et al., 2008; RANG, 2011).

Figura 11 - Produção de anticorpos monoclonais pela tecnologia do Híbridoma.



Fonte: ABBAS, 2015.

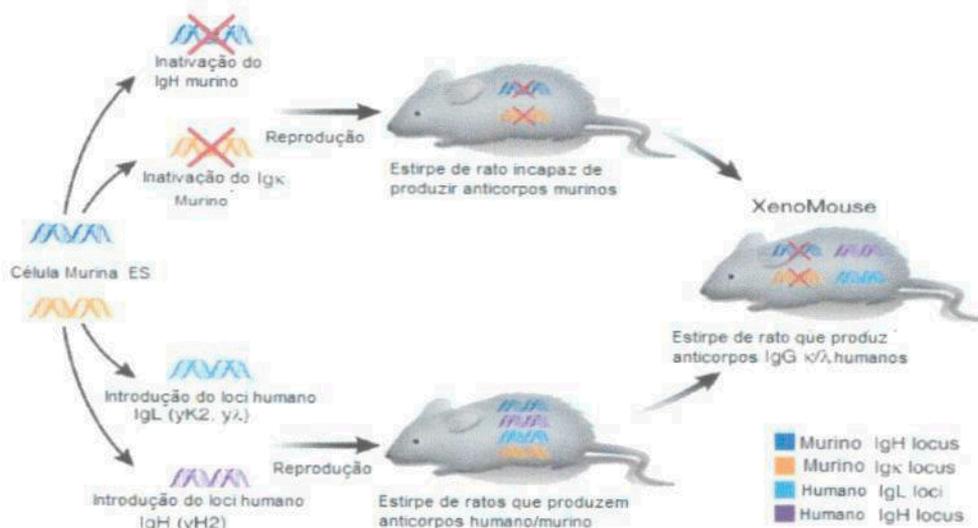
A utilização da tecnologia de híbridoma, que pode ser aplicada para anticorpos murinos, possibilitou a evolução para novas tecnologias, baseadas nos métodos do DNA recombinante, para produção dos anticorpos quiméricos, humanizados e totalmente

humanos, menos imunogênicos, mais estáveis e seguros, pelo menor risco de contaminação viral e de *prions* (AL-RUBEAI, 2011). Entre as abordagens desenvolvidas para ultrapassar estes obstáculos estavam os ratos transgênicos geneticamente modificados, com um sistema imunitário humoral "humanizado", e técnicas de expressão e seleção de bacteriófagos (JAKOBOVITS et al., 2007; ROITT, et al, 2013).

4.5.5.2 Ratos transgênicos

Uma importante técnica de produção de anticorpos monoclonais desnudos (humano-camundongo híbridos), é a criação de cepas de camundongos transgênicos (*xenomouse*) (Figura 12), na qual se introduz um *loci* das cadeias pesada (H) e leve κ de Ig humana não rearranjadas, com tamanho da ordem de megabases, em camundongos cujos genes endógenos de Ig murina foram inativados. A imunização desses camundongos pode, também, produzir anticorpos humanos de alta afinidade (AIRES SILVA et al., 2008; ROITT, et al, 2013).

Figura 12 – Técnica de produção de Anticorpos monoclonais por Xenomouse.



A Cadeia leve, kappa, e pesada do rato foram inativadas em células ES por tecnologia de direcionamento de genes. Os *loci* de cadeia leve e pesada humanos, foram introduzidos em células ES. Essas células ES modificadas foram utilizadas para gerar ratos contendo *loci* de imunoglobulina humana, na presença de anticorpos murinos inativados.

Fonte: Adaptado de JAKOBOVITS et al., 2007.

Os anticorpos criados por esta técnica podem ser produzidos por linhas celulares de hibridomas já imunizadas, ou por linhas celulares em mamíferos, como a linha celular de

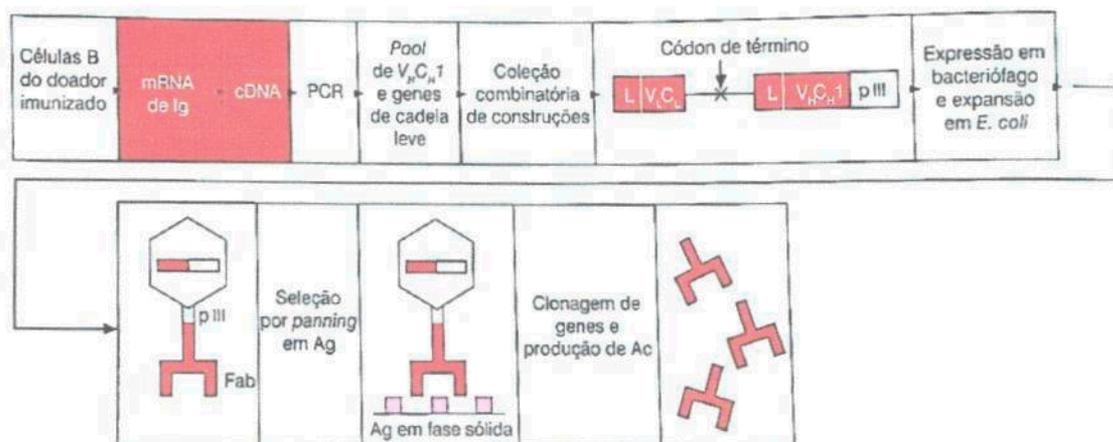
ovário de hamster chinês (CHO) (NISSIM, CHERNAJOVSKY, 2008; AL-RUBEAI, 2011).

4.5.5.3 Phage display tecnológico

A técnica *Phage Display* foi desenvolvida em 1985 por Smith, que criou bibliotecas de peptídeos na superfície dos fagos. Usando esta técnica, é possível mimetizar a estratégia utilizada pelo sistema imune humoral para produzir anticorpos completamente humanos ou fragmentos de anticorpos. (ROQUE et al., 2004; PUCCA, et al., 2011).

Em essência, o mRNA de hibridomas ou células B humanas sensibilizadas, ou provenientes de doadores humanos não imunizados, é convertido em cDNA, e os genes de anticorpos, ou seus fragmentos principalmente Fv, scFv e Fab, são expandidos pela reação em cadeia de polimerase (PCR). Em seguida, são criadas construções únicas nas quais se permite a combinação aleatória em série dos genes das cadeias leves e pesadas com genes que codificam a proteína III (pIII) do capsídeo do bacteriófago. Essa coleção combinatória contém enorme repertório de anticorpos (ou seus fragmentos) expressos como proteínas de fusão com pIII na superfície do fago. O altíssimo número de fagos produzidos por infecção de *Escherichia coli* passam por processo de *panning* com antígeno em fase sólida, para selecionar aqueles que têm os anticorpos de máxima afinidade aderidos à superfície. Sendo, em seguida, possível clonar esses genes que codificam os anticorpos e obter expressão em grande quantidade (Figura 13) (AL-RUBEAI, 2011; ROITT, et al, 2013)

Figura 13 - Seleção de genes de anticorpos em uma coleção combinatória.



Fonte: ROITT, et al, 2013.

4.6 Anticorpos Monoclonais precursores na Terapia Oncológica

Os anticorpos monoclonais Rituximabe e Trastuzumabe, foram os primeiros mAbs registrados pelas agências regulatórias e demonstraram grande importância clínica nos últimos 20 anos, sendo uma das mais bem-sucedidas estratégias para o tratamento de pacientes com tumores malignos hematológicos e tumores sólidos.

Apesar do importante impacto orçamentário, ambos foram adicionados à Lista Modelo de Medicamentos Essenciais para o Câncer de 2015, da OMS (WHO, 2016e).

E, atualmente, representam importante papel no mercado farmacêutico, considerando que esses produtos estão entre os 15 mais vendidos no mundo, dentro dos quais 11 são biofármacos, produtos de inovações biotecnológicas (Quadro 5) (PIMENTEL, et al., 2012).

Quadro 5 - Medicamentos mais vendidos no mundo 2015.

RANK	Medicamento	Princípio Ativo	Tecnologia	Expiração da patente U.S.A	Vendas 2015 (US\$ bilhões)
1	Harvoni [®]	Ledispavir /sofosbuvir	Biotechnologia	2020	18,144
2	Humira [®]	Adalimumabe	Biotechnologia	2016	14,950
3	Lantus [®]	Insulina glargine	Biotechnologia	2015	11,458
4	Enbrel [®]	Etanercept	Biotechnologia	2016	9,471
5	Crestor [®]	Rosuvastin	Biotechnologia	2016	8,608
6	Remicade [®]	Infliximabe	Biotechnologia	2018	8,195
7	Seretide [®]	Fluticasone/salmeterol	Química	2010	7,996
8	Sovaldi [®]	Sofosbuvir	Biotechnologia	2033	6,578
9	Mabthera [®]	Rituximabe	Biotechnologia	2016	6,298
10	Avastin [®]	Bevacizumabe	Biotechnologia	2019	6,183
11	Lyrica [®]	Pregabalina	Química	2027	6,035
12	Abilify [®]	Aripiprazole	Química	2015	5,799
13	Novorapid [®]	Insulina aspártico	Biotechnologia	2024	5,612
14	Herceptin [®]	Trastuzumabe	Biotechnologia	2019	5,596
15	Januvia [®]	Sitagliptina	Química	2026	5,440

Fonte: Adaptado de PIMENTEL et al., 2012; IMS Health MIDAS[®], 2015b.

4.6.1 Rituximabe: Tratamento de Linfoma Não-Hodgkin (LNH)

4.6.1.1 Linfoma não-Hodgkin (LNH)

Os Linfomas são proliferações malignas de linfócitos B ou linfócitos T que envolve os gânglios linfáticos, a medula óssea e / ou locais extranodais. Por suas diferenças de etiopatogenia, quadro clínico e anatômico, e a resposta à terapia, podem ser divididos em linfomas de Hodgkin (LH) e não-Hodgkin (LNH) (LORENZI, 2006).

O Linfoma Não-Hodgkin (LNH) é caracterizado pela ausência de células de *Reed-Sternberg*, e pode ocorrer em qualquer idade e geralmente se apresenta como uma linfadenopatia localizada ou generalizada associada à febre, à perda de peso, e com frequência a infiltração linfomatosa, observada no mielograma. O curso clínico varia de acordo com o tipo morfológico, podendo ser de linhagem B ou linhagem T / NK. E, clinicamente classificado como indolente, agressivo ou com um curso clínico variável (LORENZI, 2006).

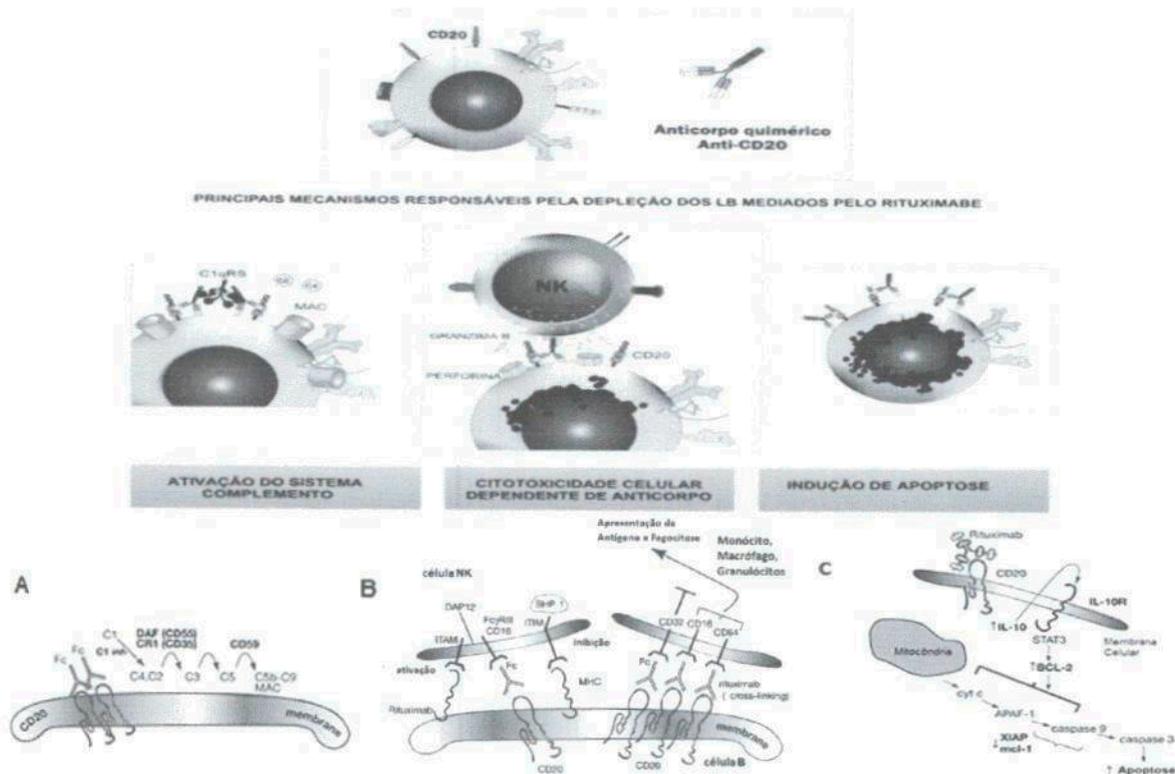
O linfoma não-Hodgkin é a quarta neoplasia mais incidente nos Estados Unidos, excluindo o câncer de pele não melanoma, sendo responsável por 4% de todas as malignidades. Destes, juntamente com o Linfoma de Burkitt, o Linfoma Difuso de Grandes Células B LDGC B é o mais incidentes em indivíduos HIV positivos (LDGC B), correspondendo a cerca de 40% dos novos casos diagnosticados e a cerca de 30% de todos os casos de LNH. A incidência vem aumentando nas últimas quatro décadas, principalmente os linfomas agressivos, o que parece ser apenas parcialmente explicado pela maior incidência de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) e pela exposição a fatores ambientais. No entanto, a maioria dos casos não tem etiologia definida, porém sugere-se que fatores hereditários, ambientais, ocupacionais e dietéticos possam estar envolvidos. Além de alguns agentes infecciosos, têm sido implicados na gênese do LNH, como os vírus HTLV 1/2 e o Epstein-Barr (EBV) (ARAÚJO, et al., 2008; BRASIL, 2014).

4.6.1.2 Rituximabe (Mabthera®)

O desenvolvimento das chamadas drogas-alvo obteve grande sucesso no tratamento dos linfomas agressivos. Estudos recentes demonstraram, o benefício do Rituximabe, um mAb quimérico, que lisa os linfócitos B ao ligar-se à glicoproteína antigênica transmembrana de diferenciação hematopoiética CD20, formadora de canal de

cálcio, associada a emissão de sinais para ativação e proliferação de células B. O Anticorpo induz a apoptose; a citotoxicidade celular dependente de anticorpos; e pela opsonização de proteínas do sistema complemento como a C1qRS, desencadeia a modulação do sistema imune para citotoxicidade dependente do complemento (Figura 14) (ARAÚJO, et al., 2008; YODER, KAMAL, 2009; RANG, 2011; CRAGG, 2011).

Figura 14 - Mecanismos de ação do anticorpo monoclonal quimérico Rituximabe.



(A) Mecanismo de lise dependente do complemento e mecanismos de resistência potencial. A cascata do complemento envolve uma série de zimógenos que são sequencialmente ativados, bem como uma série de inibidores (em negrito). Duas porções estreitamente aproximadas de Fc de imunoglobulina iniciam a via clássica, ativando C1, que por sua vez ativa C4 e C2. Esta reação é estreitamente controlada pelo inibidor C1 circulante. O complexo C1, C4 e C2, conhecido como C3 convertase, ativa C3 deixando um fragmento, C3b, na superfície celular. C3b associado com a membrana plasmática torna-se convertase C5. O fator acelerador de decaimento associado à membrana (DAF, CD55) e o receptor do complemento 1 (CR1, CD35) inibem a convertase C3 e C5. C5b, C6, C7, C8 e C9, em seguida, associam-se para formar o MAC. Esta atividade é inibida pelo inibidor de membrana da lise reativa (CD59). **(B) Os mecanismos de citotoxicidade celular e os controles após uso do rituximabe ligado CD20 na superfície das células B.** A citotoxicidade das células NK e a secreção de citocinas em resposta a uma célula B revestida com rituximabe são determinadas pelo equilíbrio dos sinais de ativação e inibição através de receptores MHC-restrito. Os sinais inibidores são via ITIM recrutando SHP-1. A ativação é feita através de um adaptador, DAP12, que contém ITAM. Para as células mielóides, o equilíbrio dos sinais através da ativação dos receptores gama $Fc\gamma R$ CD16 e CD64 e do receptor gama $Fc\gamma R$ inibitória CD32 determinam a indução de vários mecanismos citotóxicos

quando a célula do sistema imunológico encontra uma célula B revestida com rituximabe

(C) Caminhos de controle apoptóticos envolvidos na apoptose induzida por rituximabe. A IL-10 foi identificada na linha celular 2F7, mas não em outros, como a regulação negativa de bcl-2. XIAP e mcl-1 foram relatados por desempenhar papel no controle de rituximabe indutor de apoptose em pacientes com Leucemia Linfóide Crônica. A via FAS ligante / TNF / TRAIL não parece estar envolvida na morte celular induzida por CD20. Quaisquer alterações nos sinais que afetam o equilíbrio pró e antiapoptótico podem potencialmente alterar a sensibilidade ao rituximabe.

Fonte: Adaptado de CATELAN et al, 2005; SMITH, 2003.

A especificidade do Rituximabe, por sua vez, está condicionada a seleção de CD20 como um alvo apropriado, já que o antígeno é expresso a níveis razoavelmente elevados, não é regulado negativamente após a ligação do anticorpo, está presente na superfície dos linfócitos B normais e em de cerca de mais de 95% de todas as células B dos LNH, sendo expressa desde os linfócitos pré-B até os linfócitos B maduros, mas não em células progenitoras, células pró-B, plasmócitos ou em outros tecidos. Após ligação com o anticorpo, o antígeno CD20 não é introduzido na célula nem liberado da membrana celular para o ambiente, não circula no plasma como antígeno livre e, portanto, não compete pela ligação com demais anticorpos solúveis. Além disso, o fato do rituximabe eliminar as células CD20 positivas normais e malignas, durante aproximadamente 6 meses não foi associada a uma diminuição dos níveis de IgG ou a um aumento significativo do risco infeccioso (SMITH, 2003; BRASIL, 2015).

Esse medicamento faz parte da lista do Componente Especializado da Assistência Farmacêutica (CEAF) no SUS, Grupo IA, na forma de apresentação 500mg injetável (por frasco-ampola de 50mL), e os usos aprovados pela ANVISA são, para Linfoma não Hodgkin, de células B, baixo grau ou folicular, CD20 positivo, recidivado ou resistente à quimioterapia; em combinação à quimioterapia CHOP, não tratados previamente; ou a pacientes com linfoma folicular como tratamento de manutenção, após resposta à terapia de indução, e linfoma difuso de grandes células B – 1ª linha. Também é aprovado para Artrite Reumatoide, Leucemia Linfóide Crônica, Granulomatose com poliangiite (Granulomatose de Wegener) e poliangiite microscópica (PAM) (BRASIL, 2015).

No Brasil, o Rituximabe foi aprovado para o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas do Linfoma Difuso de Grandes Células B, por meio da Portaria nº 956, de 26 de setembro de 2014. E, para as Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas do Linfoma Folicular, pela Portaria nº 1051, de 10 de Outubro de 2014, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2014).

Demonstrando sua eficácia significativa, quando comparados a quimioterapia padrão CHOP (Ciclofosfamida, Doxorrubicina, Vincristina e Prednisona) versus R-CHOP, houve aumento da resposta completa (RC), a sobrevida livre de doença (SLD) e a sobrevida global (SG) dos pacientes (BRASIL, 2014).

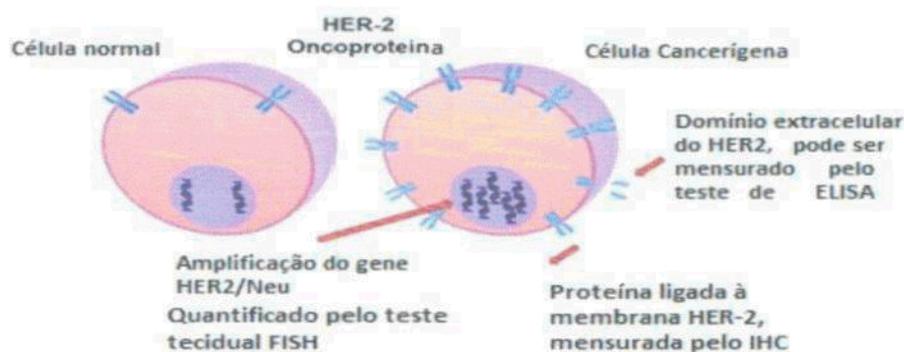
4.6.2 Trastuzumabe: Tratamento do Câncer de Mama

4.6.2.1 Câncer de Mama

Câncer de mama, que é o tipo de câncer de maior incidência e mortalidade entre mulheres em todo o mundo, no entanto, felizmente, considerado um câncer de relativo bom prognóstico, quando diagnosticado e tratado precocemente (INCA, 2015). Caracteriza-se como um grupo de doenças heterogêneo, com comportamentos clínicos, morfológicos, genéticos e de resposta terapêutica distintos. Acomete, preferencialmente, mulheres por volta dos 50 anos de idade, sendo raro antes dos 30 anos. Todavia, nas últimas décadas tem sido observado, a nível mundial, aumento da incidência inclusive em faixas etárias mais jovens (VIEIRA et al., 2012; INCA, 2016).

Tendo-se em vista a grande relevância das implicações prognósticas em relação ao status do receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2), para o câncer de mama. Já que a presença de HER2 está envolvida na regulação da proliferação celular e sua amplificação (um número excessivo de cópias dos genes) ou a superexpressão (excesso de produção da proteína) confere à célula cancerosa afetada característica de comportamento agressivo com aumento do crescimento e proliferação tumorais, maior capacidade invasiva e metastática, e estimulação da angiogênese do tumor (HORTOBAGYI, 2005).

Figura 15 - Diferença entre célula normal e células neoplásicas com amplificação ou a superexpressão de HER2.



Fonte: Adaptado de LOPEZ, 2015.

Essa amplificação do gene HER2 e/ou hiperexpressão de sua proteína ocorre em aproximadamente 20% dos cânceres de mama e está associada a pior prognóstico, por caracterizarem-se como tumores pouco diferenciados, com alta taxa de proliferação, maior incidência de linfonodos axilares positivos, diminuição na expressão de receptores de estrógeno e progesterona das células tumorais (SLAMON, et al., 2001; HORTOBAGYI, 2005).

4.6.2.2 Trastuzumabe (Herceptin®)

O trastuzumabe está indicado para o tratamento de pacientes com câncer de mama inicial ou localmente avançado, do subtipo HER2 positivo, após cirurgia, quimioterapia (neoadjuvante ou adjuvante) e radioterapia (quando aplicável) (BRASIL, 2015b).

Trastuzumabe, um mAb murino humanizado que liga-se com alta afinidade pelo HER2 (receptor do fator de crescimento epidérmico-2), um membro da família mais ampla dos receptores celulares transmembrânicos com atividade integral de tirosina cinase, envolvidos na sinalização de crescimento e diferenciação celular. A família HER é composta de quatro receptores: HER-1, 2, 3 e 4 (também conhecidos como Erb-1, 2, 3 e 4). A expressão do HER2 não é característica específica do câncer de mama, expressando-se em vários outros tipos de tumores (Figura 16) (CONASS, 2013).

O mecanismo de ação baseia-se no impedindo de sua fosforilação, levando ao bloqueio da transdução de sinal intracelular, além de induzir os inibidores p21 e p27 do ciclo celular (RANG; DALE, 2011; BAILEY et al., 2011; LEITE, 2012).

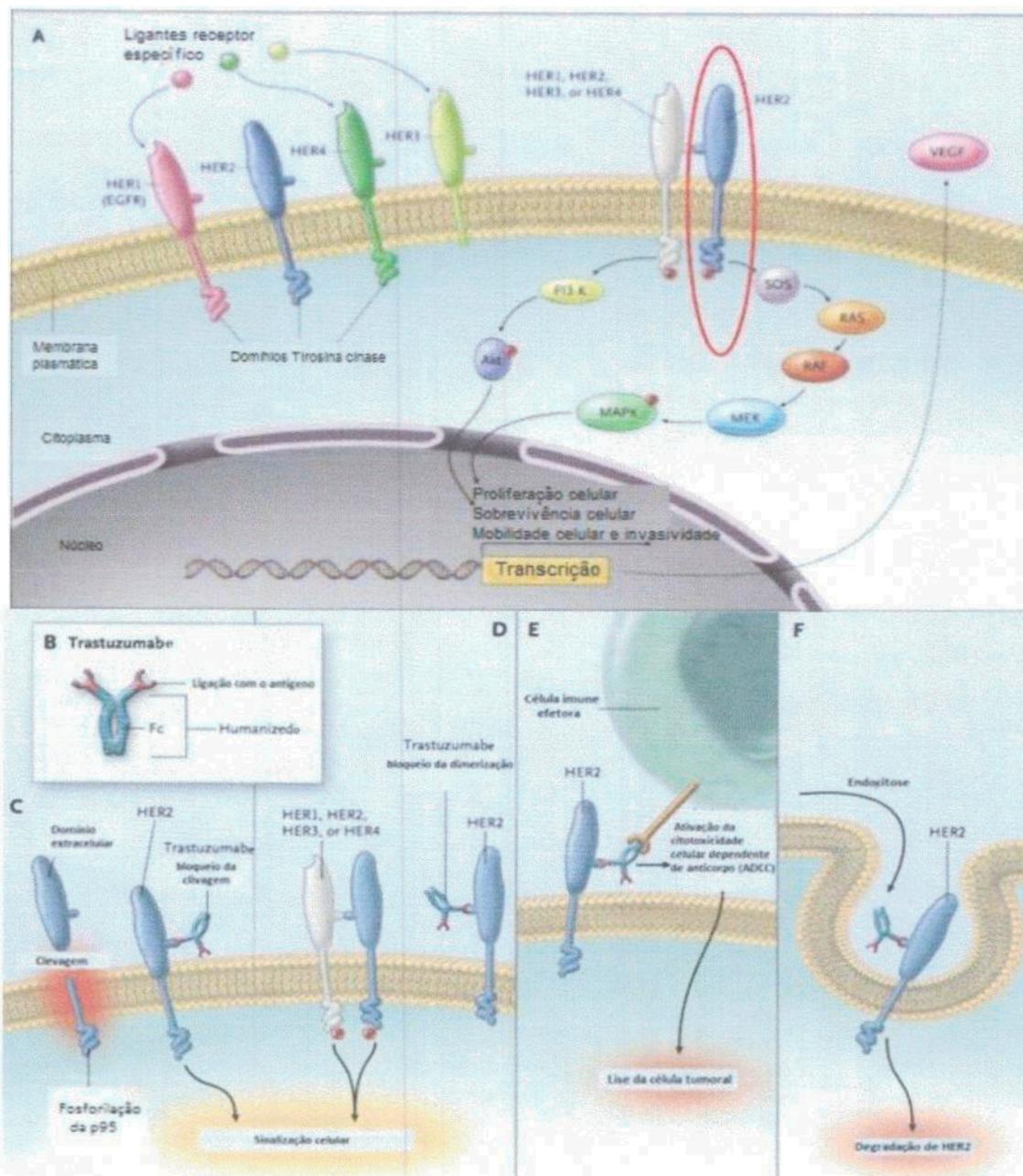
Destacando-se por ter sido a primeira terapia-alvo contra a via HER2, e seu uso mudou a história natural do câncer de mama HER2(+), resultando em melhora da sobrevida similar a cânceres de mama HER2(-) (SLAMON, et al., 2001)

No Brasil, o trastuzumabe foi aprovado pela Portaria SCTIE-MS n.º 18, de 25 de julho de 2012, para o tratamento do câncer de mama localmente avançado, de apresentações de 60mg e de 150mg do medicamento com utilização apenas em hospitais habilitados em oncologia, e cumprimento das diretrizes diagnósticas e terapêuticas do Ministério da Saúde. (BRASIL, 2015b).

O uso do trastuzumabe está associado ao risco de insuficiência cardíaca, se destacando pelo potencial de cardiotoxicidade, porém dose-limitante, também esteve associado ao risco aumentado de infecções, febre, anorexia, diarreia, artralgia, tosse, rash cutâneo, onicopatia, eritema, lacrimejamento, epistaxe. E, as reações infusionais (febre e

calafrios) são frequentes durante a primeira dose ou após 24 h, mas raramente ocorrem nas doses subsequentes (DEL DEBBIO, TONON, SECOLI, 2007; BRASIL, 2015b).

Figura 16 - Mecanismos de ação do anticorpo monoclonal humanizado Trastuzumabe.



Acredita-se que os efeitos terapêuticos do Trastuzumabe sejam mediados através: (C) inibição do desprendimento induzido por metaloprotease do domínio extracelular de HER2, conduzindo à prevenção da sinalização constitutiva através de p95ErbB2; (D) bloqueio da ativação dependente da dimerização de HER2 com HER3 ou HER4; (E) citólise mediada por efetores imunitários: pela ativação da ADCC (*in vivo*); (F) Endocitose e degradação do HER2.

Fonte: Adaptado de BAILEY et al., 2011.

4.7 Cenário Atual: Biossimilares

Mediante as alarmantes estimativas e, conseqüentemente, a evolução do conhecimento científico sobre a progressão dos tumores, são notáveis os avanços tecnológicos na área da saúde. Entretanto, o controle de doenças crônicas com risco de vida é um grande desafio para os sistemas de saúde pública nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, pois acarretam importante aumento dos custos provenientes a assistência à saúde, tornando-se cada vez mais preocupante e difícil manter um equilíbrio entre a qualidade do serviço prestado e a sustentabilidade econômica dos sistemas de saúde (HYEDA&COSTA, 2015; BRANDÃO, 2015). Nesse ponto, os produtos bioterapêuticos têm sido bem sucedidos no tratamento de muitas doenças crônicas. Contudo, o custo desses biofármacos inovadores tem sido frequentemente proibitivo, limitando assim a sua utilização, particularmente nos países em desenvolvimento (WHO, 2016a).

No entanto, a partir da década de 2010, entramos em uma nova era no desenvolvimento de produtos biofarmacêuticos, as patentes de medicamentos biotecnológicos de elevado valor agregado começaram a expirar (Quadro 5), e há uma corrida global para desenvolver e registrar produtos concorrentes, os biossimilares. Que como os medicamentos genéricos, podem ser produzidos após a expiração da patente do produto de referência (PIMENTEL, et al., 2012; IAPO, 2013).

Segundo WHO (2016c), o Produto Bioterapêutico Similar (SBP), é aquele semelhante em qualidade, segurança e eficácia ao produto licenciado bioterapêutico de referência.

O principal fator que motiva a produção desses medicamentos é torná-los acessíveis a um número maior de pacientes e proporcionar mais opções de tratamento. (IAPO, 2013).

A experiência clínica e o perfil de segurança estabelecido dos produtos originais devem contribuir para o desenvolvimento de produtos bioterapêuticos similares. O montante e a extensão dos dados necessários para a concessão de licenças para os SBPs, no entanto, são provavelmente superiores aos normalmente exigidos para os produtos originários. Visto que, a caracterização exata dessas estruturas moleculares de proteínas em laboratório é muito complexa, tornando difícil mensurar os impactos de pequenas diferenças moleculares na segurança e eficácia dos produtos. Sendo, uma abordagem genérica, tal como aplicada a fármacos de pequenas moléculas, não apropriada para

substâncias biológicas devido à sua complexidade e ao fato de o desempenho clínico depender criticamente do processo de produção. Para tanto, a OMS criou em 2009 seu *Guidelines* para regulamentação dos Produtos Bioterapêuticos Similares (SBPs), com o objetivo de padronizar as metodologias de desenvolvimento e requisitos clínicos para estes novos produtos (PIMENTEL, et al., 2012; EPSTEIN, EHRENPREIS, KULKARNI, 2014; WHO, 2016d).

Para isso, é de extrema importância que os profissionais da área estejam capacitados a tomar decisões que auxiliem a determinação do balanço entre custos e benefícios, e manejo dos danos, nos moldes da medicina baseada em evidências. Preconizando segundo o Ministério da Saúde, para incorporação de novas tecnologias em Saúde, os aspectos de segurança, acurácia, eficácia, efetividade, custos, custo-efetividade e aspectos de equidade, impactos éticos, culturais e ambientais envolvidos na sua utilização (BRASIL, 2010; CLARK, et al., 2013).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mediante o impacto atual do Câncer, pelo elevado poder de morbidade e mortalidade, decorrente um processo de carcinogênese complexo e de multietapas, iniciado por mutações genéticas em células do próprio corpo, por ativação dos proto-oncogenes a oncogenes e/ou inativação anormal de genes de supressão tumoral, inativação de fatores pró-apoptóticos ou ativação dos antiapoptóticos, na expressão anômala da telomerase e nos vasos sanguíneos locais, resultando em angiogênese direcionada ao tumor, conferindo, por conseguinte, as células cancerígenas o poder de proliferação descontrolada, desdiferenciada, com perda de função e potencial invasivo e metastático. Processos esses decorrentes de causas ambientais ou geneticamente pré-determinadas ao organismo, estando ambas inter-relacionadas.

O trabalho demonstrou, portanto, a evolução dos tratamentos antineoplásicos, por meio de uma quimioterapia com predominância dos biofármacos, como terapias alvo moleculares específicas, direcionadas a antígenos tumorais bem caracterizados, como as citocinas, p. ex. IL-2 para o câncer de rim; e os interferons, como o Interferon- α para tratamento da leucemia de células pilosas, condilomas acuminados, Leucemia Mieloide Crônica (LMC) e Sarcoma de Kaposi associado à AIDS; os marcadores celulares, como os *clusters* de diferenciação entre eles o CD20 nos Linfoma de células B, CD33 na Leucemia Mieloide Aguda, CD52 na Leucemia Linfática Crônica; e os receptores celulares, a exemplo HER2, VEGF, PDGFR- α , para o Câncer de mama, Câncer de colorretal e Sarcomas; utilizados como arsenal e alvos farmacológicos.

Aliados ao progresso da biotecnologia e engenharia genética, foi demonstrado o desenvolvimento de anticorpos monoclonais IgG e IgM, murinos, quiméricos, humanizados, totalmente humanos e seus fragmentos, entre eles Fab, scFv, Fv, *bispecifics*, *diabody* e Fc, que modula as funções dos efetores, com diminuição progressiva do potencial imunogênico, e suas metodologias de produção, hibridomas, ratos transgênicos e *display* tecnológicos.

Nesse contexto terapêutico, o Rituximabe, mAb quimérico anti-CD20, e o Trastuzumabe, mAb humanizado anti-HER2, os primeiros anticorpos monoclonais aprovados para uso clínico na terapia do câncer, foram apontados como terapias-alvo eficazes, atuando principalmente pelos mecanismos de alterações na função do antígeno ou do receptor, com conseqüente alterações nas vias de sinalização e transdução

celulares; na modulação do sistema imunológico, pela fagocitose celular dependente de anticorpo (FCDA); citotoxicidade dependente de complemento (CDC); citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC); efeitos específicos na vasculatura tumoral e estroma; ou ainda, desencadeando processos de morte celular, por indução direta da apoptose. Apresentando, por conseguinte, grande demanda no mercado farmacêutico global, já inseridas na Lista de Medicamentos Essenciais para o Câncer da OMS, e incorporados nos Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas em Oncologia brasileiros, com notável acesso à população pelo SUS.

Diante dessa já realidade, a grande inovação seguinte será na pesquisa e desenvolvimento no ramo dos Produtos Bioterapêuticos Similares (SBP), desenvolvidos após a expiração da patente dos biológico inovadores, refletindo tanto no custo como no acesso mais favorável a população e aos sistemas de saúdes, como também na possibilidade de incorporação dessas tecnologias de produção nos países em desenvolvimento.

O futuro da terapêutica se reflete, portanto, na perspectiva de intervenções de base genética, destacando-se a pesquisa sobre farmacogenômica, a partir da compreensão da biologia humana no nível molecular, identificação de perfis ou tipos de pacientes, e o desenvolvimento personalizado de medicamentos mais adequados, específicos e, com melhor perfil de eficiência e segurança.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H.; PILLAI, Shiv. **Imunologia celular e molecular**. 8ª edição, Elsevier, 2015.
- AIRES DA SILVA, F., CORTE-REAL, S., GONCALVES, J. Recombinant antibodies as therapeutic agents: pathways for modeling new biodrugs. *BioDrugs : Clinical Immunotherapeutics*. **Biopharmaceuticals and Gene Therapy**. V.22, n.5, p. 301-14. 2008.
- ANDERSON, W.F.; PFEIFFER, R.M.; DORES, G.M.; SHERMAN, M.E. Comparison of age distribution patterns for different histopathologic types of breast carcinoma. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 15, n.10, p. 1899-905. 2006.
- AL-RUBEAI, M. **Antibody Expression and Production**. Volume 7, Springer, 2011.
- AGONDI, R. C. et al. Anticorpos monoclonais no tratamento da asma. **Rev. Bras. Alerg. Immunopatol**, v. 35, n. 5. 2012.
- BALLOW, M. "Ximab this and – zumab that! Has the magic bullet arrived in the new millennium of medicine and science? **J. Allergy Clin. Immunol**, v.116, p.738-743, 2005.
- BAILEY, T. A.; LUAN, H.; CLUBB, R. J.; NARAMURA, M.; BAND, V.; RAJA, S. M.; BAND, H. Mechanisms of Trastuzumab resistance in ErbB2-driven breast cancer and newer opportunities to overcome therapy resistance. **Journal of Carcinogenesis**, v. 10, n. 28, 2011. Disponível em: <<http://www.carcinogenesis.com/article.asp?issn=14773163;year=2011;volume=10;issue=1;spage=28;epage=28;auiast=Bailey>>. Acesso em: 05 de dezembro 2016.
- BRANDÃO, C. Z. G. S.; SOUZA, J. N. Biofármacos: da pesquisa ao mercado: uma revisão da literatura. **Saúde & Ciência em Ação - Revista Acadêmica do Instituto de Ciências da Saúde**, v.1, n. 1.2015.
- BRASIL. ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Medicamentos. 2016. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/pesquisa-clinica>>. Acesso em 26 de dez 2016.
- _____. FIOCRUZ. INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM IMUNOBIOLOGICOS. BIO-MANGUINHOS. O que são anticorpos monoclonais?. 2014. Disponível em: < <https://ww>

w . bio.fiocruz.br/index.php/perguntas-frequentes/70-perguntas-frequentes / perguntas-frequentes-reativos/227-o-que-sao-anticorpos-monoclonais >. Acesso em 26 de dez 2016.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. “Protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas em Oncologia”. Brasília- DF, 2014. 356p

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Regulação, Avaliação e Controle. Coordenação Geral de Sistemas de Informação. Sistema de Informações Ambulatoriais. “Manual De Bases Técnicas Da Oncologia”. 19ª Edição. Brasília-DF: 2015a.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. “Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas do Carcinoma de Mama”. Brasília- DF, 2015b.

_____. Ministério da Saúde. “Política Nacional de Gestão de Tecnologias em Saúde”. 2010.

BRUNTON, L.L. **Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 12ª ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2012.

BUSS, N. A.P.S.; HENDERSON, S. J.; MCFARLANE, M.; SHENTON, J. M.; HAAN, L. Monoclonal antibody therapeutics: history and future. **Current Opinion in Pharmacology**. v.12, p.615–622, 2012. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/journal/14714892>>. Acesso em 11 de outubro 2016.

CARREIRA, A. C. O.; LEVIN, G.; COELHO, T. M., BELCHIOR, G. G.; SOGAYAR, M. C. Biofármacos: sua importância e as técnicas utilizadas em sua produção. **Genética na Escola**. São Paulo, v.8, n. 2, 2013.

CATELAN, T.T.T.; JÚNIOR, D.M. ARAÚJO, J.A.P.; SOUZA, A. W. S.; ANDRADE, L. E. C.; SILVA, N. P.; CRUVINEL, W. M. Linfócitos B: da imunobiologia aos imunobilógicos. *Revista Brasileira de Medicina*. v.8-10, n.2, p.35-57, 2009. Disponível em:<http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?id_materia=3765&fase=imprime>. Acesso em: 23 de outubro 2016.

CHABNER, B. A.; LONGO, D. L. *Manual de Oncologia de Harrison*. 2º Edição. Porto Alegre: AMGH. 2015.

CLARK, O.; FANTI, L.; DONATO, B.; AMARAL, L. M.; SANTINHO, C.; BERNARDINO, G. Valor clínico das terapias biológicas em oncologia: mensuração de desfechos para a avaliação de benefícios. **Jornal Brasileiro de Economia em Saúde**, v.5, n.1, p. 29-37. 2013.

CLIFFORD A. H. Trastuzumab — Mechanism of Action and Use in Clinical Practice. **The New England Journal of Medicine** .n. 357, p. 39-51, 2007. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra043186#>>. Acesso em: 19 de novembro 2016.

COLDTZ, G.A.; ROSNER, B.A.; CHEN, W.Y.; HOLMES, M.D.; HANKINSON, S.E. Risk factors for breast cancer according to estrogen and progesterone receptor status. **J Natl Cancer Inst**, v. 96, n. 3, p.218-28. 2004.

COIFFIER, Bertrand. The role of Rituximab in Lymphomas. **Re. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 24, n. 3. 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842002000300004>. Acesso em: 19 de novembro 2016.

CROMMELIN, D.J.A. et al. Shifting paradigms: biopharmaceuticals versus low molecular weight drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 266, p. 3-16. buss2003.

CRUVINEL, W.M.; MESQUITA JÚNIOR, D.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. A. S.; SILVA, N.P.; ANDRADE, L. E. C. Sistema Imunitário – Parte I: Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, n. 04, p. 434-447. Nov/Dec. 2010.

DEL DEBBIO, C. B.; TONON, L. M.; SECOLI, S. R. Terapia com Anticorpos Monoclonais: uma revisão de literatura. **Revista Gaúcha de Enfermagem**. v.28, n.1, p.133-42, 2007.

EMA. EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Disponível em: < http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/003967/human_med_001968.jsp&mid=WC0b01ac058001d124 > Acesso em 22 de dezembro de 2016.

EPSTEIN, M. S.; EHRENPREIS, E. D., KULKARNI, P. M. Biosimilars: The Need, The Challenge, The Future: The FDA Perspective. **The American Journal of Gastroenterology**. Nature Publishing Group, v. 109, p. 1856–1859. 2014.

GREENFIELD, E. A. Generating Monoclonal Antibodies. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**. p.201-221, 2014.

FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Disponível em: < <http://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ApprovedDrugProductswithTherapeuticEquivalenceEvaluationsOrangeBook/default.htm> >. Acesso em 23 de dezembro de 2016.

HALL, John E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

HYEDA, A.; COSTA, É. S. M. Uma análise preliminar dos custos em quimioterapia ambulatorial no sistema de saúde suplementar. **Jornal Brasileiro de Economia em Saúde**, v.7, n.2, p. 99-109. 2013.

HORTOBAGYI, G.N. Trastuzumab in the treatment of breast cancer. **N Engl J Med**, v. 353, n. 16, p.1734-6. 2005.

INCA. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Ações de enfermagem para o controle do câncer: uma proposta de integração ensino-serviço**. 3ª edição. Rio de Janeiro: INCA, 2008.

_____. Coordenação Geral de Ações Estratégicas. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2016: Incidência de câncer no Brasil, Rio de Janeiro: INCA, 2015. 122p.

_____. “Câncer”. Rio de Janeiro: INCA, 2016a. Disponível em: < http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322 > Acesso em: 27 out. 2016.

_____. “Quimioterapia”. Rio de Janeiro: INCA, 2016b. Disponível em: < http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=101 > Acesso em: 27 out. 2016.

INTERNATIONAL ALLIANCE OF PATIENTS’ ORGANIZATIONS. **Guia rápido sobre Medicamentos biológicos e biossimilares**. Disponível em: <www.wearepostscript.co.uk>. Acesso em: 15 jan. de 2017

IMS Health HQ Limited. **Top 20 Global Therapy Areas 2015**. n.1. jy.6, UK, 2015a. Disponível em: < http://www.imshealth.com/pt_BR/solution-areas/healthcare-market-insights> Acesso em 22 de setembro de 2016.

_____. **Top 20 Global Products 2015**. n.1. jy.9, UK, 2015b. Disponível em: < http://www.imshealth.com/pt_BR/solution-areas/real-world-evidence> Acesso em 22 de setembro de 2016.

KOZLOWSKI, S. et al. Developing the Nation's Biosimilars Program. **N. Engl. Journal of Med**, v. 365, p. 365-385. 2011.

LEITE, C. A.; COSTA J. V. G.; CALLADO, R. B.; TORRES, J. N. L.; LIMA JÚNIOR, R. C. P.; RIBEIRO, R. A. Receptores tirosina-quinase: implicações terapêuticas no câncer. **Revista Brasileira de Oncologia Clínica**, v. 8, n.29. 2012.

LORENZI, T. F. Manual de hematologia: propedêutica e clínica. 4º edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2006.

JAKOBOVITS, A.; AMADO, R.; YANG, X., ROSKOS, L.; SCHWAB, G. From Xenomouse technology to panitumumab, the first fully human antibody product from transgenic mice. **Nature Biotechnology**. v. 25, p. 1134 – 1143. 2007.

LING, W. L. W., DENG, L., LEPORÉ, J., CUTLER, C., CANNON-CARLSON, S., WANG, Y., E VOLOCH, M. Improvement of monoclonal antibody production in hybridoma cells by dimethyl sulfoxide. **Biotechnology Progress**, v.19, n.1, p.158–62. 2003.

LOPEZ, M. F. Circulating Protein Biomarkers a Boon to Breast Cancer Management Immunoassays Are the Gold Standard for Measuring Soluble Breast-Cancer-Related Proteins. **Genetic Engineering & Biotechnology News**. 2015. Disponível em: <<http://www.genengnews.com/gen-exclusives/circulating-protein-biomarkers-a-boon-to-breast-cancer-management/77900557>>. Acesso em: 12 de novembro 2016.

JOBIM, M.; JOBIM, L. F. J. Natural killer cells and immune surveillance
Células natural killer e vigilância imunológica. **Jornal de Pediatria**. v. 84, n. 4, 2008.

MESQUITA JÚNIOR, D.; ARAÚJO, J.A.P.; CATELAN, T.T.T.; SOUZA, A.W.S.;
CRUVINEL, W.M.; ANDRADE, L.E.C.; SILVA, N. P. Sistema Imunitário – Parte II:

Fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, n. 05, p. 552-580. Sep/Oct. 2010.

MIMEAULT, M; HAUKE, R; BATRA, S. K. Recent advances on the molecular mechanisms involved in the drug resistance of câncer cells and novel targeting therapies. **Clin Pharmacol Ther**, v 83, n. 5, p. 673–691. May. 2008.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, M. A. P. **Microbiologia Médica**. Tradução Carlos Pelleschi Taborda. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2009.

MORAES, A. Citotoxicidade mediada pelos anticorpos monoclonais terapêuticos. V Curso de Verão Pesquisa em Oncologia.2013. Disponível em:<http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/Amanda_Morais_citotoxicidade_mediada_anticorpos_monoclonais.pdf>. Acesso em: 28 de dezembro 2016.

MISHRA, N.; YADAV, S. Biosimilars or “Follow on Biologics” - A revolutionary change in biotechnology. **International Journal of Therapeutic Applications**. v. 3, p. 7-14. 2012. Disponível em: <http://journal.npaa.in/admin/ufile/13_70858125IJTA_3_7-14.pdf>. Acesso em: 01 dezembro de 2016

NELSON, A. L.; DHIMOLEA, E.; REICHER, J. M. Development trends for human monoclonal antibody therapeutics. **Nature Reviews Drug Discovery**. v.9, 2010. Disponível em: <<http://www.nature.com/nrd/journal/v9/n10/pdf/nrd3229.pdf>>. Acesso em: 19 de dez. 2016.

NISSIM, A, CHERNAJOVSKY, Y. Historical development of monoclonal antibody therapeutics. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v.181, p. 3–18. 2008.

NAOUM, P. C. Avanços tecnológicos em hematologia laboratorial. **Rev. Bras. Hematol e Hemoterr**. v.23, n.2, São José do Rio Preto, 2001.

NIH. U. S. NATIONAL CANCER INSTITUTE. Drugs Approved for Different Types of Cancer. Updated: Jan, 2015. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/cancer-type>>Acesso em 15 de dezembro de 2016.

NOBELPRIZE. O Prêmio Nobel. Disponível em: < http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1984/milstein-facts.html > Acesso em: 27 out. 2016.

- PASQUALINI, R.; ARAP, W. Hybridoma-free generation of monoclonal antibodies. **PNAS**. v. 101, n. 1, p. 257–259, 2004. Disponível em: <www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0305834101>. Acesso em: 11 de jan 2017.
- PIMENTEL, F. et al. O desafio de adensar a cadeia de P&D de medicamentos biotecnológicos no Brasil. **BNDES Setorial**, v. 38, p. 173-212. 2012.
- PUCCA, M. B., et al. Therapeutic monoclonal antibodies: scFv patents as a marker of a new class of potential biopharmaceuticals. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.47, n.1, pp.31-38. 2011.
- RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J.; HERDERSON, G.. **Rang & Dale Farmacologia**. 7ª Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
- REIS, Carla; CAPANEMA, Luciana X. L.; FILHO, Pedro L. P.; PIERONI, João Paulo; BARROS, José Oswaldo; SILVA, Leandro G. Biotecnologia para saúde humana: Tecnologias, aplicações e inserção na indústria farmacêutica. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 29, p. 359-392. Mar. 2009. Disponível em: <https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/2641/1/BS%2029_Biotecnologia%20para%20sa%C3%BAde%20humana_P.pdf>. Acesso em 21 de dezembro de 2015.
- ROITT, I. M; DELVES, P. J.; MARTIN, S. J.; BURTON, D. R. **Roitt – Fundamentos de Imunologia**. 12ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.
- ROQUE, A.C.A.; LOWE, C.R.; TAIPA, M.A. Antibodies and genetically engineered related molecules: production and purification. **Biotechnol. Prog.**, v.20, n. 3, p.639-654, 2004.
- SANTOS, R. V., et al. Aplicações terapêuticas dos anticorpos monoclonais. **Revista Brasileira Alergia e Imunopatologia**, v. 29, n. 02. 2006.
- SLAMON, D.J.; LEYLAND-JONES, B.; SHAK, S.; FUCHS, H.; PATON, V.; BAJAMONDE, A., et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. **The New England Journal of Medicine**, v. 344, n. 11, p. 783-92, 2001.
- SCOTT, A. M.; WOLCHOK, J. D.; OLD, L. J. Antibody therapy of cancer. **Nature Reviews Cancer**. v. 12, p.278-287, 2012. Disponível em:

<<http://www.nature.com/nrc/journal/v12/n4/pdf/nrc3236.pdf>>. Acesso em 11 de setembro 2016.

SMITH, Mitchell R. Rituximab (monoclonal anti-CD20 antibody): mechanisms of action and resistance. **Oncogene**, v.22, p. 7359–7368. 2003. Disponível em: <<http://www.nature.com/onc/journal/v22/n47/full/1206939a.html>> Acesso em 15 de dezembro de 2016.

SOUZA, A. W. S.; JÚNIOR, D. M.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; CRUVINEL, W. M.; ANDRADE, L. E. C.; SILVA, N. P. Sistema Imunitário – Parte III O delicado equilíbrio do sistema imunológico entre os pólos de tolerância e autoimunidade. **Rev Bras Reumatol**. v.50, n.6, p. 665-94, 2010.

TYAGI, S.; SHARMA P. K.; KUMAR, N.; VISHT, S. Hybridoma Technique in Pharmaceutical Science. **International Journal of PharmTech Research**. v.3, n.1, p. 459-463, 2011.

YODER, J.L.; KAMAL, K.M. A systematic review of economic analyses studying rituximab in R-CHOP therapy in patients with non-Hodgkin lymphoma. **The Open Cancer Immunol. J.**, v.2, p.1-9, 2009.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **General policies for monoclonal antibodies**. INN Working Document 09.251 Distr.: PUBLIC ENGLISH ONLY. 2009.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Biotherapeutic products**. Place Published. Available. 2016a. Disponível em: <<http://www.who.int/biologicals/biotherapeutics/biotherapeutic-products/en/>>. Acesso em 16 de dezembro de 2016.

_____. Place Published. Available. 2016b. Disponível em :<<http://www.who.int/biologicals/biotherapeutics/biotherapeutic-products/en/>>. Acesso em 16 de dezembro de 2016.

_____. Place Published. Available. 2016c. Disponível em: <http://www.who.int/biologicals/biotherapeutics/similar_biotherapeutic_products/en/>. Acesso em 16 de dezembro de 2016.

_____. Place Published. Available. 2016d. Disponível em :<http://www.who.int/biologicals/publications/trs/areas/biological_therapeutics/TRS_977_Annex_2.pdf?ua=1>. Acesso em 16 de dezembro de 2016.

_____.Place Published. Available. 2016e. Disponível em :<
<http://www.who.int/bulletin/volumes/94/10/15-163998/en/>>. Acesso em 10 de dezembro
de 2016.

VIEIRA, Sabas Carlos. et al. **Oncologia Básica**. 1º edição. Teresina: Fundação Quixote,
2012.

ZHANG, Q.; CHEN, G.; LIU, X.; QIAN Q. Monoclonal antibodies as therapeutic agents
in oncology and antibody gene therapy. **IBCB**. n.17, p. 89-99, 2007.Disponível
em:<<http://www.nature.com/cr/journal/v17/n2/pdf/7310143a.pdf>>. Acesso em: 11 de
outubro 2016.