



Anticorpi monoclonali

a cura di **Virginia Gatta**,
master di II livello in prodotti nutraceutici, Università di Pavia

Gli anticorpi monoclonali (mAb) sono anticorpi a specificità nota che derivano da singoli cloni produttori, ovvero molecole anticorpali identiche tra loro e specifiche per un certo epitopo.

Grazie a questa loro caratteristica, è possibile creare uno o più anticorpi monoclonali specifici per un singolo determinante antigenico, rendendoli dunque uno strumento estremamente efficace in ambito diagnostico e anche terapeutico.

La loro scoperta risale al 1975, quando due ricercatori, Cesar Milstein e Georges Kohler (vincitori del premio Nobel per la medicina nel 1984) misero a punto la tecnica per la sintesi degli anticorpi monoclonali. Ogni anticorpo specifico per un determinato epitopo è prodotto da uno specifico linfocita B, che però in vitro ha una breve vita. Per questo motivo si rende necessaria la produzione di ibridi cellulari detti ibridomi, costituiti da linfociti B murini specifici per un determinato antigene (Ag) e isolati dalla milza o dai linfonodi dell'animale immunizzato e, cellule mielomatose che conferiscono la caratteristica di immortalità e stabilità.

Gli ibridi generati vengono selezionati in un terreno di coltura selettivo, contenente ipoxantina, aminopterina e timidina, chiamato terreno HAT, che proprio per la sua composizione inibisce la crescita delle cellule di mieloma e dei linfociti B non fusi tra loro, permettendo la sopravvivenza dei soli ibridi.

Le cellule di mieloma (Tk-/HGPRT-) non secernono Ac e muoiono perché mancano del gene funzionale, richiesto per la sintesi di DNA nel terreno HAT, che invece è presente nelle altre cellule. In condizioni normali, le cellule sintetizzano i nucleotidi purinici e timidilato (componenti indispensabili per la sintesi del DNA) a partire da fosforibosilpirofosfato e uridilato; ma il trattamento con farmaci anti-folato, quali l'aminopterina, inibisce tale sintesi secondo il pathway normale, obbligando le cellule stesse ad usare un pathway alternativo. Il pathway alternativo richiede (per la sintesi di purina e timidilato) l'apporto esogeno di ipoxantina e timidina, che infatti sono insieme all'aminopterina i componenti terreno HAT. Per sintetizzare, mediante ipoxantina e timidina, i sopraccitati nucleotidi, sono indispensabili i rispettivi enzimi ipoxantina-guanina fosoribosil-trasferasi (HGPRT) e timidina chinasi (TK), normalmente presenti negli splenociti (e quindi negli ibridomi che ne derivano), ma che mancano appositamente nelle linee di mieloma usate come partner di fusione. Ne consegue che dopo la fusione solo gli ibridomi riescono a sopravvivere nel terreno HAT.

In ambito terapeutico gli mAb sono impiegati principalmente come agenti immunosoppressori, antineoplastici, inibitori dell'angiogenesi ma anche come antiaggreganti infatti, gli effetti più importanti dell'uso degli anticorpi monoclonali in ambito terapeutico sono stati riscontrati nel trattamento di artrite reumatoide, morbo di Crohn, alcune neoplasie (in particolare del sistema emolinfopoietico) e prevenzione della necrosi ischemica del miocardio secondaria a trombosi coronarica

Gli ibridomi vengono poi saggiati per mezzo di Test (ELISA) per individuare la presenza dell'anticorpo desiderato. Nello specifico, le cellule fuse vengono seminate in diluizione limite, ossia in maniera tale che ogni pozzetto di coltura contenga solo una cellula di ibridoma; i sovrantanti di ciascun pozzetto vengono quindi saggiati per la presenza di anticorpi in grado di reagire con l'antigene impiegato per l'immunizzazione. Una volta identificati i pozzetti positivi (ossia i pozzetti contenenti l'anticorpo della specificità voluta), le cellule vengono clonate e i cloni produttori l'anticorpo vengono identificati con uno screening simile al primo. Per ottenere grandi quantità di anticorpi è possibile far crescere i cloni di ibridoma selezionati in colture su larga scala.

In ambito terapeutico gli mAb sono impiegati principalmente come agenti immunosoppressori, antineoplastici, inibitori dell'angiogenesi ma anche come antiaggreganti infatti, gli effetti più importanti dell'uso degli anticorpi monoclonali in ambito terapeutico sono stati riscontrati nel trattamento di artrite reumatoide, morbo di Crohn, alcune neoplasie (in particolare del sistema emolinfopoietico) e prevenzione della necrosi ischemica del miocardio secondaria a trombosi coronarica. In tutti questi casi la terapia è stata limitata a soggetti refrattari ad altri trattamenti. L'effetto biologico e terapeutico esercitato dai mAb si basa sull'instaurarsi di un legame specifico tra l'anticorpo e l'antigene bersaglio.

La funzione di antigene può essere svolta anche da un recettore come l'HER2/neu, al quale si lega il fattore di crescita dell'epidermide umano, legame che risulta overespresso in alcuni casi di tumore mammario. In questo caso l' anticorpo monoclonale specifico, legandosi al recettore, impedisce che a questo si leghi il fattore di crescita dell'epidermide, limitando quindi la progressione del tumore. Molti studi di fase II hanno dimostrato una buona tollerabilità e un buon tasso di sopravvivenza in pazienti trattati con mAb in fase recidivante. Ma l'azione antitumorale si esplica anche tramite la lisi diretta della cellula neoplastica operata da un mAb specifico per le proteine situate sulla superficie delle cellule tumorali, o tramite l'utilizzo di molecole coniugate agli anticorpi (mAb coniugati) quali tossine, sostanze radioattive, farmaci o enzimi attivatori di un profarmaco. Nel primo caso gli anticorpi monoclonali possono avere lo scopo di promuovere una risposta immunitaria efficace nei confronti del tumore stesso. Un esempio è quello degli mAb usati contro le leucemie che, legandosi ad un antigene altamente espresso sulla superficie dei linfociti B e T, fissano il complemento e l'immunità mediata da anticorpi o ADCC (citotossicità cellulomediata anticorpo dipendente) inducendo la lisi della cellula stessa. Per quanto riguarda gli mAb coniugati, la loro particolarità è legata non alla stimolazione o alla soppressione della sorveglianza immunitaria dell'organismo ma alla distruzione della cellula bersaglio, tramite la tossina ad esempio, identificata dall'anticorpo. Per quanto riguarda l'effetto immunosoppressore invece, questo può essere ottenuto bloccando molecole responsabili dell'iniziazione della risposta immune cellulomediata (molecole HLA di classe II, recettore T cellulare), molecole accessorie (quali CD4, CD8, CD28) che inviano alla cellula un segnale costimolatorio, molecole di adesione (CD11/CD18, CD54, VCAM-1, le selectine) deputate tanto a mediare i contatti intercellulari quanto la migrazione cellulare nel sito di flogosi, fattori solubili quali le citochine (ad esempio il TNF-alfa) coinvolte nell'amplificazione della risposta immune. Nonostante i successi ottenuti, alcuni studi dei primi anni 2000 hanno dimostrato che i pazienti trattati con anticorpi monoclonali, a lungo andare, tendevano a produrre propri anticorpi diretti contro quelli estranei aggra-



Da un punto di vista economico e temporale se paragonati ad altri farmaci, gli mAb rappresenterebbero un vantaggio notevole, dato il breve impiego di tempo e denaro richiesto per la loro sperimentazione

vando la loro situazione. Infatti, i limiti degli anticorpi monoclonali sono legati all'induzione di una risposta immunitaria, un' emivita relativamente breve quando somministrati nell'uomo, scarso riconoscimento del dominio Fc degli anticorpi murini da parte dei meccanismi effettori umani. A causa del fallimento di molti trials clinici, alcune case farmaceutiche, che intorno agli anni 2000 avevano assistito al boom di questi biofarmaci, hanno subito un crollo traducibile nella perdita di milioni di dollari. Fortunatamente le successive ricerche hanno portato alla scoperta del superamento dei limiti prima citati grazie a processi che rendono gli anticorpi monoclonali chimerici (ottenuti incrociando la regione variabile, che riconosce l'antigene, di anticorpi murini con la regione costante di un anticorpo umano) o umanizzati (ottenuti inserendo, in un anticorpo umano, la sola porzione della regione variabile murina che riconosce l'antigene). Queste scoperte hanno permesso di conservare la specificità di legame degli stessi anticorpi, rendendoli contemporaneamente più simili ad un anticorpo umano naturale. Gli anticorpi chimerici infatti, risultano meno immunogenici, hanno una prolungata emivita sierica e permettono l'attivazione di varie funzioni mediate dalla regione Fc. L'efficacia di tali farmaci ha rappresentato una svolta importantissima in campo terapeutico, già agli inizi del 2002, quando la FDA statunitense ha approvato più di 10 nuovi anticorpi monoclonali, tra i quali anche i primi anticorpi strutturati in modo da portare a destinazione una sostanza radioattiva. Inoltre, da un punto di vista economico e temporale se paragonati ad altri farmaci, gli mAb rappresenterebbero un vantaggio notevole, dato il breve impiego di tempo e denaro richiesto per la loro sperimentazione. Tuttavia, questo grande successo sembra doversi scontrare con l'insufficienza di attrezzature disponibili in alcune aziende, ed è per questo che studi biotecnologici hanno proposto alcuni interessanti spunti per la cre-

azione di anticorpi monoclonali derivanti da piante o da latte animale. Nel periodo che va da gennaio 2010 a luglio 2014, la FDA ha approvato 17 anticorpi monoclonali, 11 dei quali contenenti nuovi principi attivi. Tra questi meritano particolare rilevanza quelli approvati per il trattamento del carcinoma mammario metastatico HER2-positivo, per il linfoma di Hodgkin e il primo anticorpo glicoingegnerizzato (tecnica che permette di alterare la struttura molecolare di immunoglobuline G e produrre mAb di nuova generazione con potenza, citotossicità cellulare anticorpo-dipendente (ADCC) ed emivita aumentate). Il mercato europeo, legato in particolare agli anticorpi monoclonali e biosimilari, ha assistito a fasi altalenanti. Dal 2006 al 2008 il tasso di approvazione UE ha subito un rallentamento notevole, tanto che l'EMA (Agenzia Europea dei Medicinali) ha approvato solo pochi farmaci e, ha assistito al ritiro di altri. Per tali motivi le vendite sono state modeste ma già dal 2013 il totale delle vendite sui principali mercati UE ha riportato cifre pari 360 milioni di dollari. Gli anticorpi monoclonali sembrano essere ancora i protagonisti indiscussi del mercato, ma soprattutto la comunità scientifica continuerà ad approvarne di nuovi. Le innovazioni e la ricerca nel campo dell'ingegneria anticorpale ci consente di affermare che i prodotti a base di anticorpi monoclonali rimarranno la classe di biofarmaci più importante. Da non sottovalutare inoltre, la grandissima competizione dovuta al numero sempre crescente di innovazioni in questo campo, che a sua volta renderà necessario lo sviluppo di nuove tecnologie, che a loro volta diventeranno protagoniste della nuova ondata di prodotti che invaderà il mercato. Al momento si contano circa 30 prodotti in fase di sviluppo clinico e in attesa di ulteriore approvazione. Il numero di studi e i relativi risultati, gli investimenti, le risorse e le approvazioni testimoniano la grande avanguardia che gli anticorpi monoclonali rappresentano per il settore farmaceutico.

Intimo Softcare®

DETERGENTE DELICATO SPECIALE
UTILIZZABILE ANCHE IN CASO DI IRRITAZIONI ASPECIFICHE



Per te, con te, ogni giorno...

L'Intimo Softcare è un detergente intimo speciale, senza profumazione, assolutamente innovativo e primogenito di una nuova famiglia di detergenti «filmogeni» basati sui derivati del glucosio (caprylyl/capryl glucoside, hydroxyethylcellulose), in grado di svolgere una delicata azione detergente e protettiva su cute e mucose.

Vi è un solo tensioattivo, il caprylyl/capryl glucoside, assolutamente non aggressivo e impiegato alla minima dose, caratterizzato da un equilibrato potere detergente anche in acque dure; la camomilla (chamomilla recutita

water) svolge un'azione decongestionante e deodorante, l'elastina marina (hydrolyzed elastin) è protettiva ed eutrofica. La cellulosa (hydroxyethylcellulose) è un derivato del glucosio che, dopo evaporazione dell'acqua, si deposita sulla pelle e sulle mucose, proteggendole con un sottile strato filmogeno.

Pertanto è indicato per la detersione della mucosa ano-genitale sia in soggetti che non tollerano i comuni detergenti intimi, sia per l'igiene intima di neonati, lattanti e bambini.