



FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

NUEVAS ESTRATEGIAS DE INMUNOTERAPIA ANTITUMORAL:
ANTICUERPOS BIESPECÍFICOS

Autora: Irene Zamorano Gómez

Tutor: José Antonio Guerra Guirao

Fecha: Junio 2019

ÍNDICE

1.RESUMEN	2
2.INTRODUCCIÓN	2
3.OBJETIVOS	3
4.MATERIALES Y MÉTODOS	3
5.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	4
5.1 ESTRUCTURA DE LOS ANTICUERPOS.....	4
5.2 ANTICUERPOS BI-ESPECÍFICOS	5
5.2.1 ANTICUERPOS BI-ESPECÍFICOS Y CÁNCER	10
5.2.2 ANTICUERPOS BI-ESPECÍFICOS AUTORIZADOS	13
5.2.2.1 Catumaxomab (Removab).....	13
5.2.2.2 Blinatumomab (Blinicyto).....	14
5.2.3 ANTICUERPOS BI-ESPECÍFICOS EN DESARROLLO	15
5.2.3.1 Navicixizumab (OMP-305B83).....	16
5.2.3.2 RO6958688/RG7802.....	16
5.2.3.3 AFM13	17
5.2.3.4 Solitomab (AMG110/ MT110)	17
5.2.3.5 AMG 212/ BAY2010112.....	18
5.2.4 VENTAJAS Y LIMITACIONES DEL USO DE ANTICUERPOS BI-ESPECIFICOS	18
5.2.4.1 A Beneficios terapéuticos	18
5.2.4.2 Limitaciones/ mecanismos de escape	18
6. CONCLUSIONES	18
7. BIBLIOGRAFÍA	19

1 RESUMEN

Los anticuerpos bi-específicos (BsAb) han suscitado gran interés en la investigación frente al cáncer debido a su potencial terapéutico. Son moléculas diseñadas artificialmente, capaces de unirse simultáneamente a varios antígenos diferentes, por lo tanto, se pueden aplicar para redirigir células inmunes efectoras a las células tumorales. Los avances en la tecnología del ADN recombinante han permitido producir múltiples formatos de estos anticuerpos. Actualmente, existen dos grandes clases de BsAb, los similares a IgG y los no similares a IgG, como los BiTES. Existen dos BsAb comercializados, el Catumaxomab un anticuerpo tri-específico anti EpCAM/CD3 y cuyo dominio Fc recluta células inmunitarias para el tratamiento de tumores gástricos y el Blinatumomab un BiTE anti CD19/CD3 aprobado para el tratamiento de la Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) de linfocitos B recidivante. Pero existen múltiples anticuerpos bi-específicos en ensayos clínicos frente a diversas neoplasias malignas y se espera que en el futuro muchos de ellos puedan ser opciones de tratamiento. Esta revisión se centra en los distintos métodos empleados para producir los BsAb y las perspectivas y beneficios terapéuticos del tratamiento con estas terapias basadas en anticuerpos bi-específicos.

2 INTRODUCCIÓN

El cáncer es la segunda causa de mortalidad en los países desarrollados y la tercera en países en vías de desarrollo. Inicialmente los únicos tratamientos posibles del cáncer eran la quimioterapia, la radioterapia y la cirugía, aparte de las terapias dirigidas, pero en los últimos años se ha producido un gran avance en la inmunoterapia, que son terapias que emplean el sistema inmunitario del paciente para luchar contra los tumores, surgiendo un nuevo filón para el tratamiento del cáncer.⁽¹⁾

La utilización del sistema inmune es una perspectiva muy potente para el tratamiento del cáncer, algunas de las opciones que se pueden emplear son suministrar citoquinas, la transferencia celular adoptiva que consiste en el desarrollo de células inmunitarias ex vivo del propio paciente y posterior infusión promoviendo la respuesta de las células T mediante vacunación. Sin embargo existen mecanismos de evasión e inhibitorios de las células tumorales que condicionan el empleo de estas estrategias terapéuticas.⁽²⁾ La alternativa es el uso de anticuerpos, una herramienta terapéutica para el tratamiento de múltiples patologías, que se basa en la activación de la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) o activando o inhibiendo la señalización en la superficie celular.⁽³⁾

En la actualidad una gran parte de los anticuerpos utilizados en terapia son monoespecíficos, pero estos no han sido tan eficaces como se esperaba para el tratamiento de distintos tipos de cáncer, ya que los pacientes no han respondido como se predecía al tratamiento con estos anticuerpos, esto puede ser debido a que el cáncer tiene un origen multifactorial, es por ello que se está investigando el uso de anticuerpos bi-específicos para poder atacar varios objetivos a la vez.⁽⁴⁾ Se están estudiando estructuras de anticuerpos no convencionales como los de simple cadena y bi-específicos. Los anticuerpos bi-específicos tienen especificidad por dos antígenos distintos.

Estos BsAbs en estudio están siendo diseñados para distintas perspectivas para el tratamiento del cáncer:

- 1) Bloqueo de dos ligandos o distintos receptores de membrana, actuando sobre la señalización celular, inactivando la proliferación o activando vías inflamatorias y secreción de citoquinas que lleva a la lisis del tumor.

- 2) Reclutamiento de linfocitos T citotóxicos, por lo tanto los BsAbs dirigen estas células inmunitarias al tumor donde inducen formación de sinapsis inmunes.⁽⁵⁾

Los anticuerpos bi-específicos provocan el acercamiento del linfocito T y la célula cancerosa, esto se produce por la unión del anticuerpo al CD3, un complejo invariable del receptor de linfocitos T (TCR), responsable de la interacción de los LT con células presentadoras de antígeno, y el antígeno de la célula tumoral. La destrucción de la célula diana no depende ni de la especificidad del LT ni de la expresión del CMH por parte de la célula tumoral, por lo que se evitan tanto los mecanismos de evasión como la regulación de las células T⁽⁶⁾. Los antígenos estudiados de la célula diana para el tratamiento con anticuerpos bi-específicos son antígenos que se expresan en células cancerosas, sin embargo no son accesibles en células normales como CEA o EpCAM, otros son sobreexpresados en las células tumorales como HER-2/neu o EGFR.⁽²⁾

Para que un anticuerpo monoclonal tenga éxito terapéutico es necesario que la molécula sea selectiva además de potente, también se debe humanizar las secuencias para evitar la inmunogenicidad y por último se debe aplicar la ingeniería de la fracción FC para poder modular y reclutar a la célula inmune efectora. Los anticuerpos bi-específicos tienen un gran potencial para futuros tratamientos contra diversas patologías. Únicamente están aprobados dos BsAbs para el tratamiento del cáncer pero hay aproximadamente 30 más en desarrollo clínico para esta misma finalidad terapéutica. Los formatos más avanzados de BsAb en ensayos clínicos de cáncer son TrioMabs y BITEs. Exclusivamente dos BsAbs han sido aprobados para uso en pacientes, el Catumaxomab de nombre comercial Removab® , fabricado por Fresenius Biotech y Blinatumomab de nombre comercial: Blincyto®, producido por Amgen.⁽⁷⁾

En este trabajo se revisarán conceptos de inmunoterapia desde la perspectiva de los anticuerpos bi-específicos así como su aplicación clínica en el tratamiento del cáncer.

3 OBJETIVOS

En la presente revisión bibliográfica, el objetivo ha sido aproximarse a los tratamientos farmacológicos actuales, tanto a los ya aprobados y comercializados como aquellos en fase de desarrollo en ensayos clínicos, en los que el principio activo se corresponde con un Anticuerpo Bi-Específico.

4 MATERIALES Y MÉTODOS

Para dar una respuesta a los objetivos de esta revisión se ha realizado una búsqueda bibliográfica en bases de datos bibliográficas como Pubmed, Scopus, Elsevier, Dialnet o Cochrane así como libros y artículos de la biblioteca virtual de la Universidad Complutense de Madrid o Google académico. Se elaboraron estrategias de búsqueda concretas, utilizando combinaciones específicas para las bases de datos, de descriptores y de términos libres para suplir las posibles deficiencias en la indexación de los artículos. Los términos principalmente utilizados fueron “Bi-specificantibody”, “biologicaltherapy”, “treatment”, “monoclonal antibody” y “tumor targets”, entre otras.

Los artículos se seleccionaron atendiendo a su año de publicación (limitando los estudios publicados a partir del año 2000 hasta la actualidad), el idioma, inglés o español, y a su índice de impacto. Otros criterios de inclusión fueron revisiones sistemáticas, meta-análisis, ensayos experimentales in vitro, ensayos clínicos en pacientes adultos con cáncer y estudios que

valoren la mortalidad, morbilidad o la calidad de vida en términos de supervivencia, recurrencias y toxicidad tras el tratamiento con fármacos biológicos.

Todo este proceso se completó mediante una búsqueda de informes de sociedades científicas y organizaciones oficiales como el Instituto Nacional del Cáncer, la Sociedad Americana del Cáncer, la Agencia Europea del Medicamento, el Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y la Sociedad Española de Oncología Médica.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 ESTRUCTURA DE LOS ANTICUERPOS

Los anticuerpos son un componente fundamental del sistema inmune. Son proteínas, también llamadas inmunoglobulinas, producidas por los linfocitos B (LB), su característica principal es que pueden inducir la destrucción por parte de componentes del sistema inmune de una diana debido a que la reconoce con elevada especificidad y se une a ella con alta afinidad. Los anticuerpos se pueden dividir en dos partes, la fracción constante (Fc) y las fracciones variables de unión a antígenos (Fab), cada cadena consta de una región bisagra y dominios CH2 y CH3, la bisagra une Fab y Fc y forma enlaces entre cadenas pesadas, existe una amplia interacción entre dominios CH3 lo que ha llevado al desarrollo de la ingeniería del CH3.⁽⁷⁾

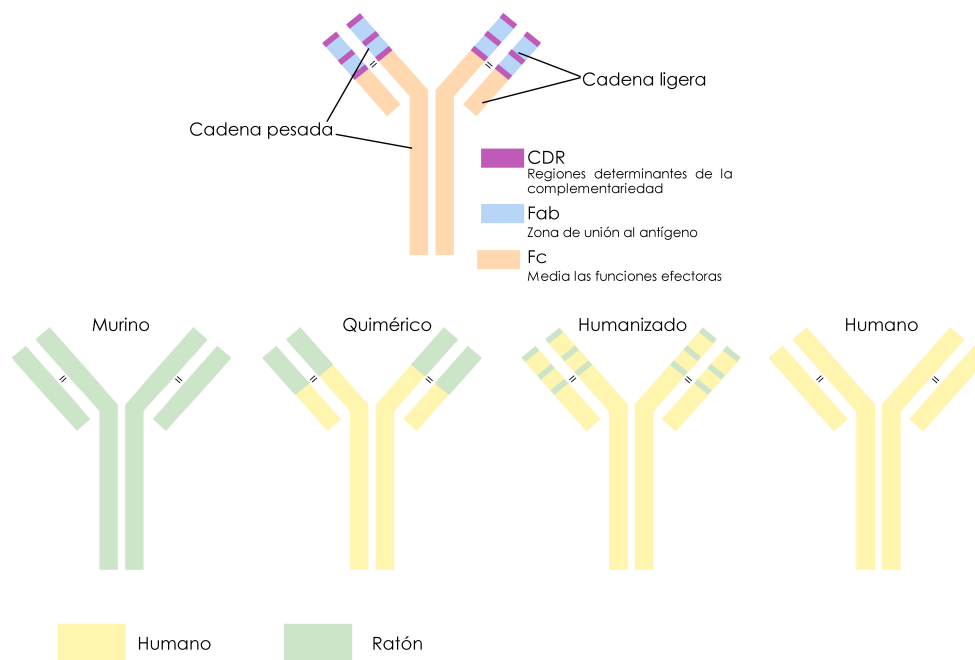


Fig 1. Estructura de un Anticuerpo

La fracción constante Fc, una proteína heterodimérica, es la encargada de las funciones efectoras como reclutar a células del sistema inmunitario. En función de sus regiones pesadas se clasifican en los diferentes isotipos (IgA, IgG, IgM, IgD e IgE) y poseen distintas funciones efectoras, por ejemplo la IgG, produce la activación del complemento, opsoniza, inhibe la retroalimentación de LB y participa en la citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC). Esta última es desencadenada por el receptor Fc, expresada por células mieloides como las NK, las cuales se activan al unirse al dominio Fc cuando el anticuerpo se une al antígeno y libera citotóxicos como perforina o granzima para inducir la apoptosis de la célula diana. Tanto las regiones constante y variables están formadas por las cadenas pesadas y ligeras, los anticuerpos naturales poseen dos cadenas

ligeras idénticas (VL) y dos cadenas pesadas idénticas (VD). También poseen segmentos hipervariables denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR) que interaccionan con el antígeno y son cruciales para determinar la especificidad y la afinidad del anticuerpo. Cada dominio VL y VH contiene tres regiones hipervariables y forman entre ellos un espacio de unión al antígeno.⁽⁸⁾

5.2 ANTICUERPOS BI-ESPECÍFICOS

Cada linfocito B produce un anticuerpo con especificidad única dirigida contra un solo blanco, es lo que se denomina como anticuerpo monoclonal (MAb). Para producir estos MAbs en el laboratorio se emplea la tecnología del hibridoma por la cual se generan LB inmortalizados hibridando una célula B normal productora del anticuerpo y una célula de mieloma inmortal, más tarde se selecciona la célula que genere el anticuerpo monoclonal deseado. Los primeros MAbs se introdujeron en el mercado en los años 90 y desde entonces se está investigando para mejorar su estructura, su función y su aplicación en el ámbito clínico. La tecnología del ADN recombinante ha supuesto un gran avance y la aparición de múltiples anticuerpos terapéuticos.⁽⁹⁾

Los anticuerpos monoclonales creados por la tecnología del hibridoma, eran principalmente murinos y han sido empleados en terapia pero manifestaron una baja eficacia en pacientes inmunocompetentes cuando el tratamiento era largo. Esto era debido a la respuesta inmune frente al anticuerpo murino, que provocaba una disminución de los niveles de MAbs en sangre por su rápida eliminación y el aumento del riesgo anafiláctico, lo que se conoce como respuesta HAMA (human anti-mouse antibody). Para evitar este problema se sustituyeron secuencias murinas por humanas, creando un anticuerpo denominado quimérico. Se unieron las regiones variables (Fab) murinas, que son las específicas, a una Fc de un anticuerpo humano, así se dotó al anticuerpo de funciones efectoras y además se limitó la respuesta HAMA.

Más tarde, se desarrollaron los anticuerpos humanizados, en los que las regiones hipervariables (CDR) murinas se añaden a un anticuerpo humano. Y posteriormente, se han obtenido los anticuerpos completamente humanos. En las técnicas para la producción de anticuerpos humanos se emplean ratones productores de los anticuerpos mediante la eliminación de los genes de inmunoglobulinas por knock out e incorporación de genes que codifiquen para inmunoglobulinas humanas (transféresis). Otro método sería la utilización de genotecas de regiones variables (Fc) de anticuerpos, donde fagos expongan en su superficie una Fab con especificidad para un anticuerpo. Otra tecnología empleada para este fin sería la producción de anticuerpos mediante el aislamiento de linfocitos B productores de inmunoglobulinas de pacientes vacunados, más tarde se obtiene a partir de esta célula la secuencia empleada para producir MAbs humanos.⁽⁴⁾

En un principio los MAbs recombinantes que se empleaban en clínica presentaban una estructura igual a la de un anticuerpo natural, pero en los últimos años se han desarrollado nuevos formatos de anticuerpos como los anticuerpos de regiones variables en simple cadena (scFv), en los que las Fv de las cadenas IgP y IgL son fusionadas, esto dota de simplicidad a la molécula pero al no poseer Fc carece de función efectora. Empleando este tipo de anticuerpos como base se han desarrollado más tipos de anticuerpos como los bi-específicos (BsAbs), en los que se ha fusionado en una sola molécula dos scFv con especificidades distintas o los multivalentes que presentan varios sitios de unión a blancos. Respecto a los anticuerpos bi-específicos los más empleados son los BITE (anticuerpos de anclaje a linfocitos T) formados por dos scFv que se unen por un lado a un marcador de linfocitos T

(LT) y por otro a un marcador tumoral permitiendo el acercamiento del LT a la célula tumoral.⁽¹⁰⁾

Algunas modificaciones en la Fc como interacciones electrostáticas o alteraciones en la cadena pesada con Fab diferentes han permitido la generación del denominado anticuerpo tri-específico, además existen transformaciones en la Fc que mejoran las funciones efectoras. La ingeniería del Fc es importante para mejorar la eficacia de los anticuerpos bi-específicos, se puede prolongar la vida media o aumentar la capacidad de ADCC o CDC. Por ejemplo, la unión de Fc con C1q desencadena la citotoxicidad dependiente de anticuerpo. El FcRn es otro receptor con gran importancia, se expresa en el endotelio y protege a las IgG de la degradación y alarga la vida media de la IgG hasta 8 días, mientras que sin FcRn únicamente permanece un día en plasma.⁽⁴⁾

Los BsAbs son de tamaño variable, pueden oscilar entre unos pocos kDa a 1000 kDa, se suelen administrar por vía parenteral y no se someten a metabolismo hepático o renal sino que se degradan proteolíticamente. Es posible que sus efectos adversos se deban a las citoquinas que modulan sus propiedades, las cuales pueden afectar a la expresión de citocromos y algunos transportadores.⁽⁷⁾ Según un análisis de la FDA el síndrome de liberación de citoquinas (RSC) y las respuestas inflamatorias fueron los efectos adversos más comunes en animales, otros fueron hepatotoxicidad, neurotoxicidad y toxicidad gastrointestinal. Además los BsAbs dirigidos frente al antígeno CD20 o CD19 pueden producir linfopenia. La mayor similitud entre toxicidades en animales y humanos fue el RSC y la toxicidad hepática secundaria a la inflamación. La tolerancia a anticuerpos bi-específicos anti-CD3 podría mejorar con un aumento escalonado de la dosis, porque se reduciría la incidencia y la severidad de las reacciones adversas. Por lo tanto, la dosis escalonada y el aumento de la duración de la infusión pueden ser eficaces para reducir el riesgo de RSC. La vía de administración también es un factor a tener en cuenta, puesto que puede afectar al MTD humano; por ejemplo, para el catumaxomab la dosis es de 10-20-50-150 mcg intraperitoneal, administrado en los días 0, 3, 7, 10 mientras que la administración de 10 mcg por vía intravenosa provocó el fallecimiento de un paciente por fallo hepático.⁽¹¹⁾

Los BsAbs pertenecen a la segunda generación de anticuerpos con aplicación clínica en inmunoterapia. Los tipos de anticuerpos bi-específicos que existen en la actualidad son:

- Formatos no similares a IgG, los cuales son anticuerpos de una sola cadena. Para producirlos se fusionan en tándem distintos fragmentos de scFv, este tipo de moléculas son las que se suelen emplear para dirigir contra antígenos de tumores leucocitarios y reclutar a la vez células del sistema inmune. Son muy eficaces en el reclutamiento de LT y la inducción a la apoptosis celular. Este tipo de formato tiene una ventaja, al ser de menor tamaño, penetran mejor en los tejidos, esto también se produce ya que existe una menor activación inespecífica de las células de la respuesta inmune debido a que no tienen Fc. Aunque debido a esta ausencia de Fc presentan una baja estabilidad en suero y su tiempo de vida media es menor que el de los formatos con estructura de anticuerpo natural. Por lo tanto, su administración debe ser mediante infusión continua y durante un periodo prolongado. Para mejorar esta limitación se pueden fusionar los anticuerpos con albúmina o con moléculas hidrofóbicas, como el polietilenglicol, prolongando su vida media. En este grupo se incluyen formatos como BiTES, diabodies, tandAbs (anticuerpos en tándem) y anticuerpos duales de reorientación de la afinidad (DART).

- Otro tipo de formato son los similares a IgG, en los que gana mucha importancia la ingeniería de Fc debido a que es una potente herramienta para mejorar la eficacia clínica de los anticuerpos biespecíficos, ya que puede prolongar la vida media o aumentar la capacidad de ADCC o CDC. En este grupo se incluyen anticuerpos trispecíficos (TrAbs), CrossMab, knobs-in-holes (kih) IgG de cadena ligera común, inmunoglobulinas de dominio variable dual (DVD-Ig) e IgG-scFv (fragmento variable de cadena simple).

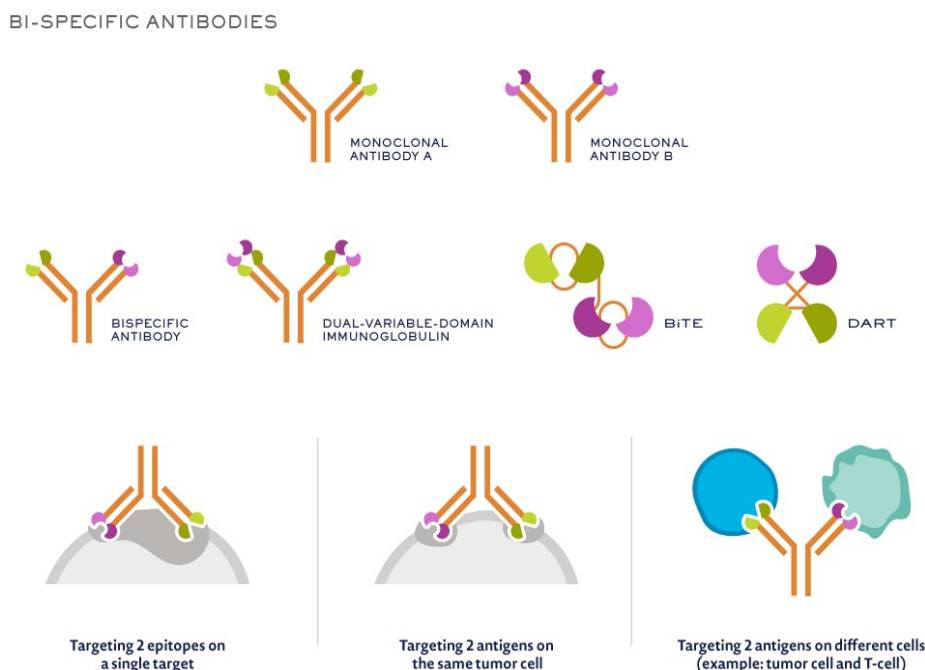


Fig 2. Anticuerpos biespecíficos.

Los TrAbs (TrioMabs) y BITEs son los formatos de anticuerpos bi-específicos que se hallan al frente de los ensayos clínicos sobre tratamiento del cáncer, pero únicamente dos han sido clínicamente aprobados a pesar de que existen más de 30 en distintas fases de ensayos clínicos. Estos dos anticuerpos son Catumaxomab (anti-EpCAM/anti-CD3) y Blinatumomab (anti CD19/anti CD3) son representativos de los dos formatos explicados previamente de BsAbs. El catumaxomab es un anticuerpo trifuncional, producido a partir de un quadroma rata/ratón, mientras que el Blinatumomab es un BiTE. ^(5, 9)

Modificaciones y tecnología para producir BsAbs:

Los anticuerpos bi-específicos se originaron inicialmente por fusión de dos hibridomas obteniendo un quadroma que producía BsAbs o por la oxidación-reducción de cisteínas de los anticuerpos. Pero la verdadera revolución de los BsAbs tuvo lugar con el desarrollo de la tecnología de ADN recombinante. La técnica del quadroma fue la empleada para desarrollar el primer anticuerpo bi-específico destinado a reclutar LT, pero era una técnica limitada debido al desarrollo de HAMA y al bajo rendimiento del proceso de producción. Posteriormente se desarrollaron por conjugación química anticuerpos frente a Her2 y EGFR de cánceres epiteliales y antiCD64 para reclutar a monocitos y macrófagos pero, a pesar de la administración del factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) la respuesta fue baja porque se requerían concentraciones muy altas del anticuerpo. Debido a estas limitaciones se comenzó a utilizar la tecnología recombinante.⁽¹⁰⁾ Actualmente esta tecnología ha permitido superar los problemas de producción para que se puedan generar a mayor escala

y permite una mayor variabilidad estructural de anticuerpos, se han desarrollado más de 100 formatos distintos de BsAbs.⁽³⁾

La siguiente generación de anticuerpos fue la producida a partir de mutaciones "knobs-in-holes" que son variaciones estructurales en el dominio CH3 de la cadena pesada, uniendo dos anticuerpos con un dominio Fc y un dominio Fab común mediante la creación de una polaridad de carga en la Fc. Provocando; por ejemplo, que la Fc de la IgG A sea positiva y la Fc de la IgG B sea negativa. Son moléculas heterodímeras con dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras distintas. Se generarán varias combinaciones de cadenas ligeras y pesadas pero solo existe una combinación que sea el anticuerpo bi-específico deseado. Por ello la mayor limitación de esta técnica es el emparejamiento incorrecto de las cadenas, para evitar este problema se emplearon cadenas ligeras comunes en ambos Fab.

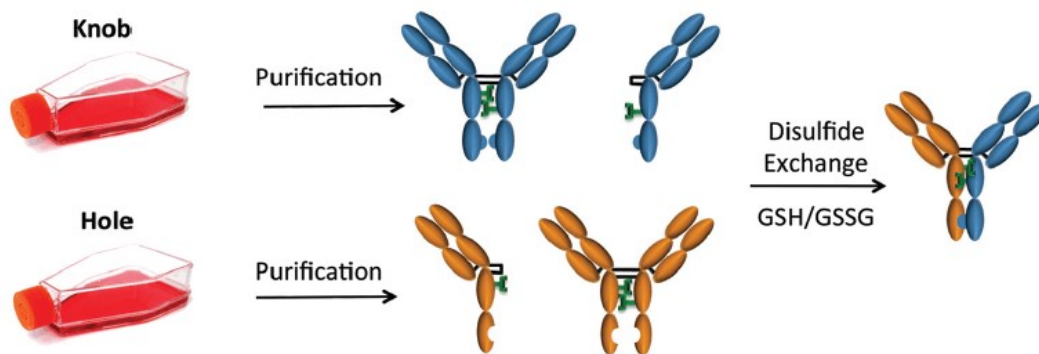


Fig 3. Knobs-in-holes Bispecific Antibody (KIH BsAb).

Otra técnica empleada es la tecnología del "Crossmab", es el método más utilizado en la actualidad, por la que se puede crear anticuerpos bi y trispecíficos y con la que se superó por completo los errores de emparejamiento. Se crean los denominados Doble-variable (DVD) que se producen añadiendo un fragmento de Fab o un anticuerpo dando como resultado anticuerpos tetravalentes similares a IgG con dos sitios de unión para cada antígeno. Se crea así una proteína con cuatro dominios Fab conectados por un enlazador, sus propiedades farmacológicas son similares a las de una IgG normal.⁽⁸⁻¹⁰⁾

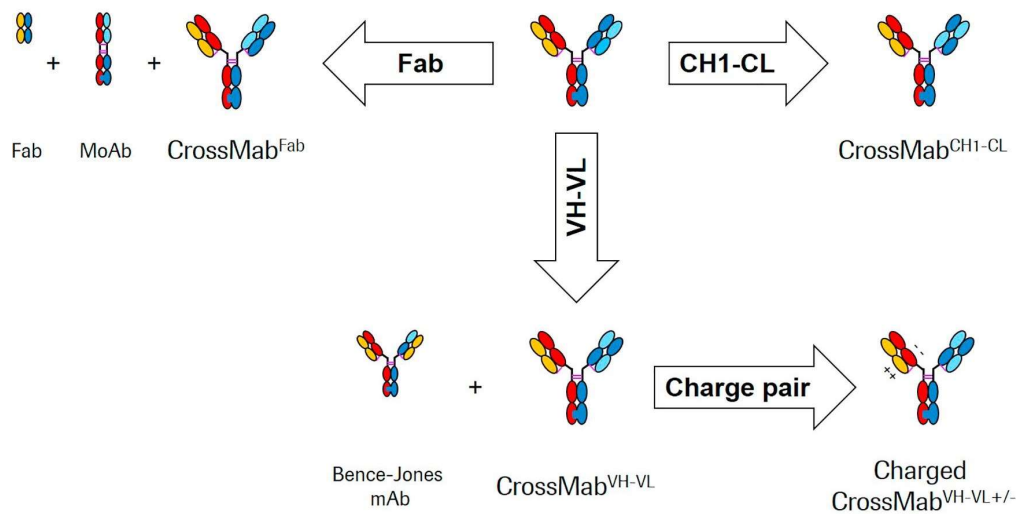


Fig 4. Tecnología Cross Mab.

Por otro lado se encuentran los anticuerpos bi-específicos no similares a IgG, los cuales además de penetrar mejor en el tumor son menos inmunogénicos como los BiTES aunque su tamaño tan pequeño hace que tengan una vida media menor. Para solventar este problema se crearon los anticuerpos tetravalentes TandAbs, los cuales son una buena alternativa clínica, son anticuerpos bi-específicos no similares a IgG, que presentan dos sitios de unión para cada antígeno, tienen una sola cadena peptídica con dos VH y dos VL, dando como resultado scFvs en tándem. Estas proteínas ejercen la acción antitumoral de forma independiente de la relación efector/célula diana. Estos anticuerpos exceden el umbral de depuración renal, por lo que ofrecen una vida media más larga que anticuerpos biespecíficos más pequeños, lo que supone una gran ventaja farmacocinética. TandAbs anti CD33/CD3, CD19/CD3 AFM11 y CD30/CD16A AFM13 son ejemplos de este tipo de anticuerpo que se encuentran en ensayos clínicos. (12, 13)

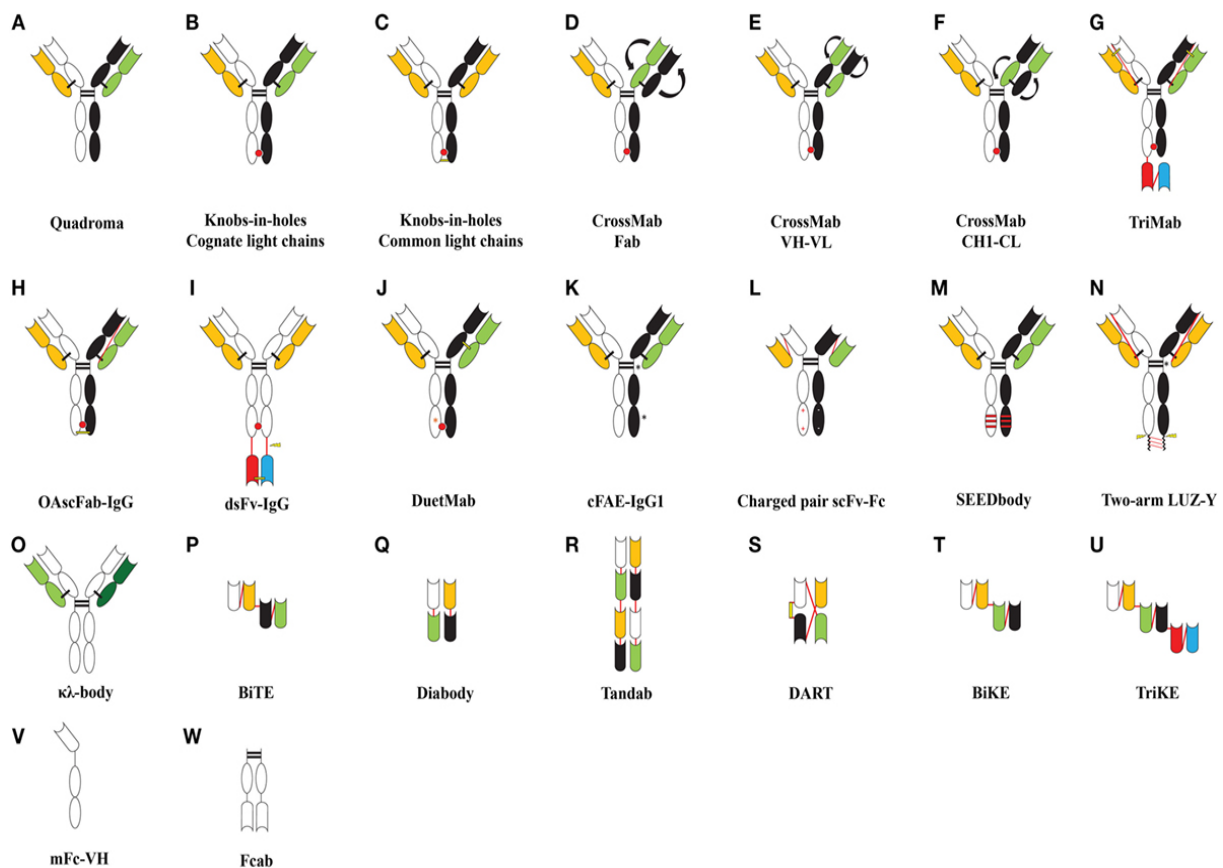


Fig 4. Formats of bispecific antibodies and scaffolds described in the literature.

Aunque la mayoría de los anticuerpos bi-específicos que se están desarrollando median la migración de los LT hacia el tumor, también existen otras alternativas terapéuticas como formatos capaces de reclutar células NK mediante la unión al antígeno CD16, son los denominados BiKEs y TriKEs. Existe un BiKE con afinidad por Her2 y por CD16 que recluta las células NK a tumores Her2 positivos. Otro ejemplo es un anticuerpo anti EpCAM que incorpora también una IL15 que facilita la capacidad de ADCC. Las células NK poseen un receptor activador junto con los L CD8+, los ligandos de este receptor son MICA y ULBP2, y se han desarrollado anticuerpos que presentan estos ligandos unidos a scFv que se dirigen frente a distintos antígenos tumorales, como por ejemplo CD19 o CD33 expresados en leucemia linfocítica crónica. Otro anticuerpo presenta MICA unido a una scFv con afinidad

por CD24, el cual es expresado en hepatocarcinomas. Estos anticuerpos activan las células NK produciendo la lisis y apoptosis de las células del tumor tanto in vivo como in vitro.

Los diabodies son otro tipo de anticuerpo bi-específico no similar a IgG, que presentan una scFv con dos regiones variables unidas por péptidos enlazadores cortos formando un dímero no covalente. Estos diabodies poseen una gran afinidad por su diana. También existen anticuerpos de un solo dominio que son los denominados nanobodies. Otro formato son las proteínas DART que son heterodímeros de dos anticuerpos distintos denominados parentales, esta proteína es de mayor tamaño y por ello tiene una alta estabilidad en suero, son muy potentes con elevada citotoxicidad. Una de ellas es MGDOO6 una DART con especificidad por CD3/CD123 que activa la proliferación de LT específicos y se encuentra en fase I de ensayo clínico en leucemia mieloide aguda refractaria de riesgo intermedio/alto. ^(9, 14, 15)

5.2.1 ANTICUERPOS BI-ESPECÍFICOS Y CÁNCER

En el caso de enfermedades complejas, como el cáncer, una variedad de mediadores contribuyen a la patogénesis de la enfermedad a través de diferentes mecanismos, y la inhibición de múltiples dianas puede producir un mejor efecto terapéutico que el bloqueo de un solo objetivo. El uso de anticuerpos recombinantes es una de las estrategias más prometedoras para el tratamiento tanto de tumores hematológicos como sólidos, además presentan menos efectos adversos que la quimioterapia tradicional. Los LT juegan un papel clave en el inmunovigilancia e inmunidad antitumoral, la ventaja de los BsAbs sobre las IgG convencionales o MAbs es que estos últimos no pueden reclutar LT al no tener receptores Fc. Los mecanismos por los que son utilizados exitosamente en la clínica debido a su efecto anti-tumoral incluyen:

- Acción directa del anticuerpo sobre las células tumorales, mediante la unión a marcadores específicos del tumor (bloqueo o activación de un receptor, inducción de apoptosis, entrega de un agente citotóxico, entre otros)
- Inhibición de la vascularización o angiogénesis del tumor mediante anticuerpos.
- Inducción de muerte de la célula tumoral por mecanismos inmunes (CDC, ADCC, regulación de la función de linfocitos T.) ⁽⁴⁾

Dentro de estos mecanismos, las acciones frente a las que se destinan la mayoría de los BsAbs y que se desarrollan a continuación son: reclutamiento de células efectoras, entrega de un agente citotóxico y evitar resistencias a distintos fármacos.

Reclutamiento de células efectoras

El método más utilizado para el tratamiento de tumores, es el reclutamiento de células efectoras del sistema inmunológico del huésped para la destrucción selectiva de células tumorales que expresen un antígeno diana. Una Fab del anticuerpo identifica las células tumorales a través de un antígeno específico del tumor, mientras que la otra fracción, se utiliza para reclutar y activar un leucocito adecuado. Las células T y las células NK son las principales células efectoras que ayudan a eliminar las células tumorales; por lo tanto, ambos tipos de células son las que se reclutan con más frecuencia por anticuerpos bi-específicos. Como los denominados BiTEs, capaces de unirse a la célula tumoral y al linfocito T de forma simultánea, con una scFv que se une a una molécula específica de LT citotóxicos, generalmente CD3, y una segunda scFv que se une a un antígeno asociado a un tumor, provocando el acercamiento y la activación de los LT por proximidad. Las células T se activan y liberan citoquinas para eliminar las células tumorales cuando se forma la sinapsis entre las células T y las células tumorales.

Transporte de sustancias citotóxicas

Otra utilidad de los anticuerpos bi-específicos es su capacidad para actuar como unión entre los fármacos y la célula tumoral (evitando así efectos secundarios) o entre dos epítomos de una célula, pudiendo bloquear así simultáneamente dos vías de señalización. También tienen la capacidad de unirse a antígenos que se encuentran alejados en la superficie celular debido a la capacidad de difusión, estos anticuerpos bi-específicos consiguen acercar los antígenos mientras que para un anticuerpo convencional esa distancia podría ser insalvable.

Para aproximar el fármaco a la célula tumoral se puede emplear la digoxigenina (Dig) como estructura de carga para transportar las sustancias citotóxicas. Estas sustancias pueden ser por ejemplo, agentes quelantes o fluoróforos. Los BsAb pueden entregar ARN pequeño de interferencia (siRNA) a las células tumorales interfiriendo así en la expresión de los genes tumorales, reduciéndola. Esta es una opción muy prometedora en el tratamiento antitumoral. SiRNA puede ser digoxigenilado y ligado a un BsAb que se une a los antígenos tumorales como el antígeno HER2, estos complejos únicamente suministran el siRNA a las células que expresan el antígeno determinado. Otra alternativa interesante es el empleo de la toxina de la difteria en la terapia contra el cáncer, debido a que es un potente mediador de la muerte celular con independencia del ciclo celular. Esta toxina se puede fusionar con scFvs bi-específicos que se dirijan a las células tumorales. Es el caso de la molécula DT2219 que se encuentra en ensayos clínicos y ha demostrado alta efectividad y seguridad, esta molécula se une a los antígenos CD19 y CD22 expresados en tumores de LB. Otra forma de administración de fármacos directamente al tumor es el empleo de minicélulas bacterianas, que son partículas anucleadas debido a la inactivación de genes bacterianos. Los fármacos antineoplásicos son introducidos dentro de las minicélulas, los BsAb con afinidad por las minicélulas y por antígenos tumorales, transportan los fármacos directamente a la superficie de la célula tumoral produciéndose la endocitosis y liberación del agente citotóxico. Este tipo de formatos han obtenido buenos resultados en los estudios preclínicos, por lo que existe un anticuerpo biespecífico que se dirige a EGFR y va ligado a una minicélula cargada con paclitaxel en fase I.^(9, 16)

La denominada radioinmunoterapia, entrega radiación a distintos sitios del organismo, por lo que los anticuerpos bi-específicos pueden tener un rol importante en este tipo de tratamiento, empleando un anticuerpo bi-específico con especificidad por metales emisores de partículas como DOTA-Bn (radio lantánido) y por antígenos tumorales como GPA33. Este tipo de agentes radioinmunológicos pueden ser efectivos en el tratamiento de metástasis sin acumulación en riñón y médula ósea de metales radioactivos.

Uso de BsAb para evitar mecanismos de resistencia al tratamiento antineoplásico

La activación de moléculas reguladoras inhibitorias es el principal motivo por el que surgen resistencias a la inmunoterapia. Por lo tanto, el desarrollo de algunos BsAb se centra en superar estas resistencias, que pueden ser innatas o adquiridas. PD1/PDL1 y B7-H3 regulan la inhibición de los LT, el bloqueo de B7-H3 limita el desarrollo del tumor. Se han desarrollado anticuerpos frente a B7-H3 y CD3 para prevenir el efecto negativo de B7-H3 a la vez que activan los LT. La terapia con anticuerpos puede desencadenar a su vez una evasión inmunológica del tumor, esta situación también puede ocurrir con los anticuerpos bi-específicos. Aunque la expresión de PD-1/PD-L1 sea baja al principio del tratamiento de un tumor, esta puede ser inducida al administrar un BiTE. A su vez, el bloqueo de PD-1 y PD-L1, puede volver a sensibilizar a estas células frente al anticuerpo bi-específico. Las células T reguladoras pueden influir en la capacidad de producir una respuesta inmunitaria potente, al

interferir con la actividad de los LT citotóxicos y afectar a la eficacia de estos. El ipilimumab, es un MAb que mejora la actividad citotóxica de los LT reclutados por los BsAb, ya que se une a CTLA-4, un antígeno presente en los LT reguladores. La administración de ipilimumab mejora la itotoxicidad y la secreción de citoquinas de los LT.^(14,17)

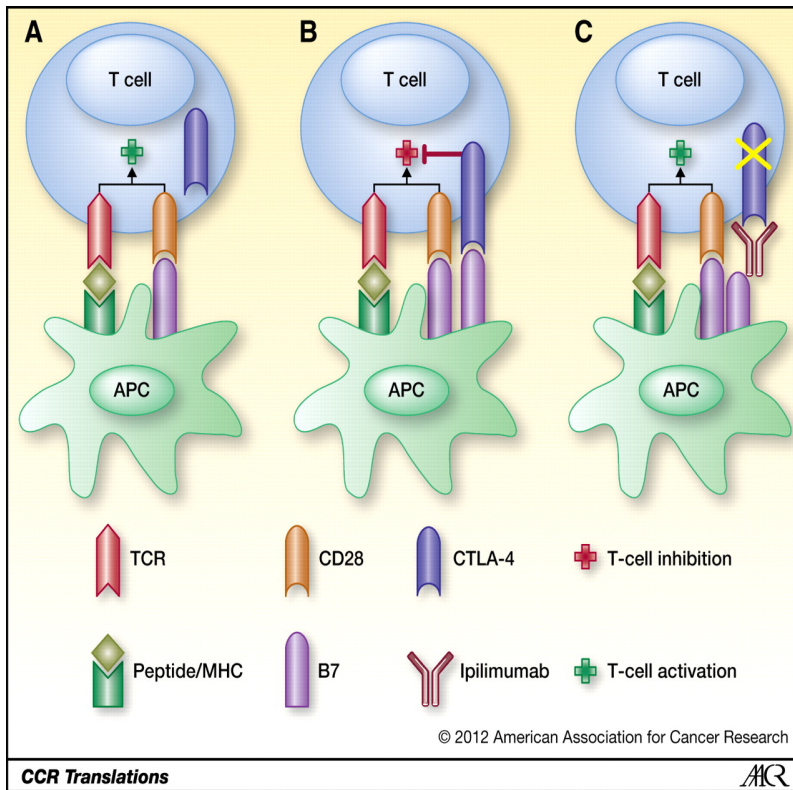


Fig 5. Mecanismo de acción de Ipilimumab. La activación de células T requiere 2 señales (flecha). Una señal implica que el TCR reconozca un antígeno peptídico unido a un MHC en la superficie de una APC. La segunda señal implica coestimulación a través de la interacción de CD28 en las células T con las moléculas B7 (B7-1 / CD80, B7-2 / CD86) en las APC. B, tras la activación de las células T, CTLA-4 es reclutado a la membrana plasmática y funciona en un papel inhibitor, uniéndose con mayor afinidad que CD28 a B7. A través de varios mecanismos, esta unión resulta en la inhibición de la activación y función de las células T. C, ipilimumab se une a CTLA-4 y bloquea su papel inhibitor. Al deshabilitar las funciones inhibitorias de CTLA-4, ipilimumab mejora la actividad de las células T. APC, célula presentadora de antígeno; TCR, receptor de células T.

Otro ejemplo para evitar mecanismos de resistencia, es un BsAb específico para el receptor del factor de crecimiento Met/EGFR. EGFR se sobreexpresa en algunos carcinomas como el de pulmón y el colorrectal, esta sobreexpresión provoca la proliferación de las células tumorales. Existen fármacos para bloquear este factor como el Gefitinib, frente al cual muchos pacientes desarrollan resistencia, esto es debido a la activación del oncogen MET. La administración del anticuerpo bi-específico anti Met/EGFR favorece la degradación de EGFR y por lo tanto es una prometedora solución para restablecer la sensibilidad a los fármacos inhibidores de EGFR.

El Bevacizumab, es un Mab dirigido frente a VEGF, evitando así la proliferación vascular, sin embargo el empleo de un único agente antiangiogénico provoca la resistencia a estos medicamentos porque existen factores angiogénicos alternativos como la angiopoyetina-2.(Ang-2) y Dll4, que no están siendo bloqueados. Para dar una solución a este problema se desarrolló el BsAb A2V, que inhibe la Ang-2 y al VEGF simultáneamente lo que conduce a una disminución de la vasculatura del tumor y con ello el retraso del crecimiento del mismo. También se desarrolló otro anticuerpo bi-específico HD105 frente a VEGF y Dll4. Estudios in vivo han demostrado que este anticuerpo es más eficaz reduciendo la angiogénesis en cáncer de pulmón humano y gástrico que los anticuerpos antiVEGF o anti-Dll4 solos.^(9, 10)

La combinación de pertuzumab, trastuzumab (ambos MAb anti-HER2) y paclitaxel es considerado el tratamiento estándar para pacientes con cáncer de mama metastásico HER2+.

Sin embargo, los pacientes pueden desarrollar farmacoresistencia al trastuzumab. Para solventar esta limitación anticuerpos bi-específicos están en desarrollo, como Ertumaxomab, un anticuerpo tri-específico anti-HER2+, anti-CD3 (LT) y que media la ADCC mediante su Fc. Este TrioMAB ha demostrado una eficacia significativa frente a tumores resistentes a los fármacos clásicos y en la actualidad se encuentra en fase II de estudio. La aplicación sinérgica de medicamentos con diferentes mecanismos antitumorales, incluyendo anticuerpos monoclonales y bi-específicos, puede aportar más beneficios en el tratamiento de este tipo de cáncer. ⁽¹⁸⁾

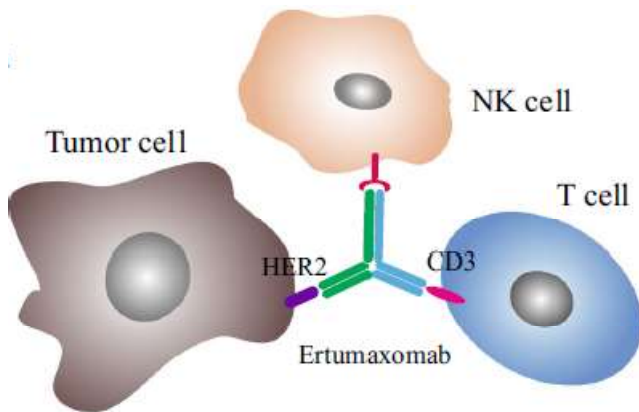


Fig 7. Ertumaxomab, se une al CD3 de LT y a HER2 además de mediar ADCC.

Otro tratamiento, con una prometedora aplicación clínica, es la combinación de la terapia CAR-T con anticuerpos bi-específicos. Esta terapia consiste en cultivar LT procedentes de donantes o del propio paciente, activarlas y ampliarlas con IL-2, después de recopilar estos linfocitos se ligan a los anticuerpos bi-específicos con afinidad por ellos. Esta técnica puede mejorar la respuesta clínica, debido a que supera las limitaciones del microambiente antitumoral y evita la toxicidad provocada por el aumento de citoquinas derivado de la administración de anticuerpos bi-específicos solos. Se cree que es posible integrar anticuerpos bi-específicos en los LT, incorporando receptores sintéticos que pueden inducir la activación transcripcional de genes que expresen anticuerpos bi-específicos, de forma que cuando un LT reconozca una célula tumoral, el receptor inicie una señalización que induzca la expresión de los anticuerpos bi-específicos, generando una reatrolimentación positiva activando más LT. ⁽⁹⁾

5.2.2 ANTICUERPOS BI-ESPECÍFICOS AUTORIZADOS

5.2.2.1 Catumaxomab (Removab®)

El catumaxomab es un anticuerpo de 150 kDa trifuncional quimérico (TrAbs), sus regiones variables presentan afinidad por el antígeno EpCAM (una glicoproteína transmembrana presente en muchas células tumorales) y por el antígeno CD3 de los LT. El dominio Fc recluta además células de la respuesta innata inmunitaria, preferentemente macrófagos, células NK y dendríticas para activar la destrucción de la célula diana. Por lo tanto, el Catumaxomab produce la muerte de las células tumorales por lisis mediada por LT, fagocitosis, inmunomodulación de citoquinas y mediante la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC). ⁽¹²⁾

Este fármaco fue aprobado por la EMA para la terapia de la ascitis intraperitoneal en adulto con carcinomas EpCAM positivo, para los que la terapia habitual no era posible. Aunque en 2017 la Comisión Europea retiró la autorización de comercialización de Removab® (catumaxomab) en la Unión Europea a petición de la empresa de comercialización por razones comerciales. Estudios realizados por Ruf et al. en modelos in

in vitro e in vivo demostraron una correlación entre la inducción de la respuesta inmune humoral y la supervivencia de los ratones, incluyendo una inmunidad protectora duradera. Cuando se administró el anticuerpo sin el dominio Fc hubo una disminución de la supervivencia, por lo que también es importante el reclutamiento de células de la inmunidad innata. ^(19,20)

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

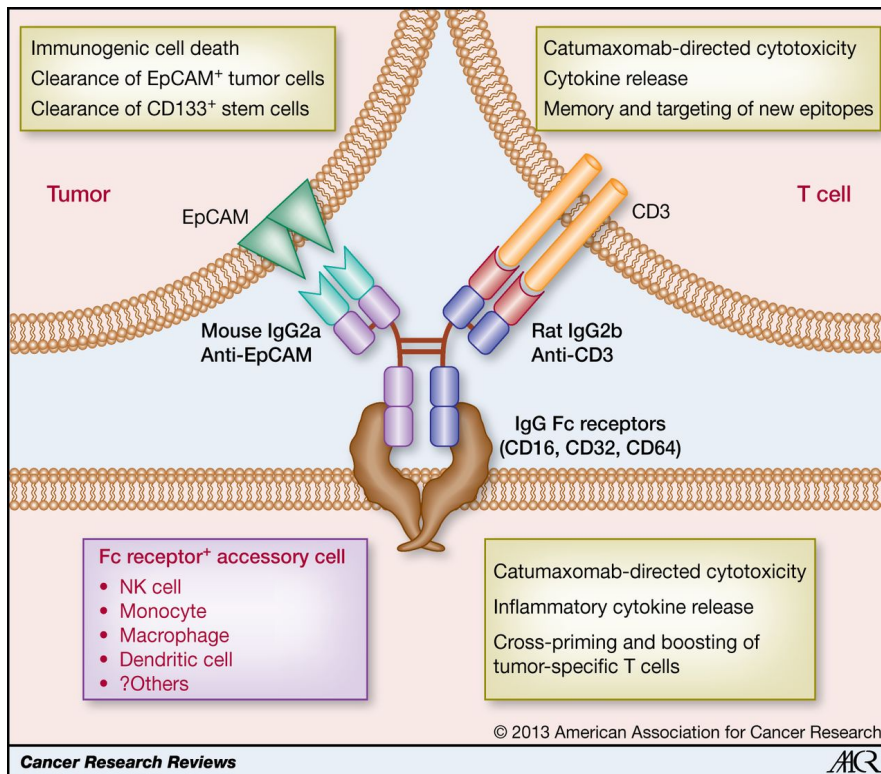


Fig 8. Ataque inmune antitumoral amplificado por catumaxomab. La evidencia apoya la formación de un complejo tricelular en el que catumaxomab causa la colocalización de las células T, las células accesorias que expresan el receptor Fc y las células tumorales que expresan EpCAM. Múltiples consecuencias inmunológicas directas y tardías se derivan de esta interferencia triangular.

5.2.2.1.1 Farmacocinética y farmacodinámica

En un estudio de fase I/II de cáncer de ovario, se observó una disminución media del 99.9% en el número de células tumorales EpCAM positivas tras ser tratadas con catumaxomab. En 6 de cada 23 pacientes se redujeron las células tumorales por debajo del límite de detección. Se produjo un aumento de TNF α e IL-6 tras la terapia en pacientes que al inicio tenían niveles plasmáticos normales, la proporción de pacientes con IL-6 elevada fue del 80% y la del TNF α del 60%. También fueron medidos los anticuerpos humanos frente a ratón (HAMA) debido a que este es un anticuerpo quimérico, y 14/15 pacientes superó el límite normal de HAMA tras el tratamiento.

Se observó también la elevación de las enzimas hepáticas (ALT, AST y GGT) cuando la dosis era 5 μ g más 10 mg de dexametasona o 7.5 μ g más 40 mg de dexametasona, pero no fueron detectados cuando se coadministró 5 μ g de catumaxomab con 40 mg de dexametasona. La dosis máxima tolerable se fijó en 7 μ g y como se ha mencionado previamente, no se prosiguió con el estudio tras el éxitus de un paciente por insuficiencia hepática después de la administración de 10 μ g. El intervalo de dosificación con administración intraperitoneal más empleado es de 10, 20, 50 y 150 μ g siendo el determinado en los estudios de fase I. En estudios de fase II/III se ha demostrado que el catumaxomab mejora la supervivencia, disminuye los síntomas, la ascitis, el tiempo libre de paracentesis y conllevó a una mejora del estado general del paciente. Sus efectos adversos más comunes son las náuseas, vómitos, pirexia y dolor abdominal. ⁽⁷⁾

5.2.2.2 Blinatumomab (Blinicyto®)

El blinatumomab también denominado MT103 o scCD19XCD3 es un BiTE de ratón de 55 Kda con regiones variables dirigidas frente a CD19 y a CD3. Los fragmentos de dominios variables se unen por secuencias no inmunogénicas. La FDA le otorgó la aprobación acelerada para el tratamiento de la recaída de leucemia linfoblástica aguda (LLA) ph negativa de LB en 2014 y posteriormente le otorgó la aprobación regular ampliando la indicación para LLA ph positiva refractaria. Los linfocitos B malignos con frecuencia expresan el antígeno CD19 por lo que es muy útil para el tratamiento de la LLA, la leucemia linfocítica crónica (CLL) y el linfoma no Hodgkin (NHL) ^(12,21,22)

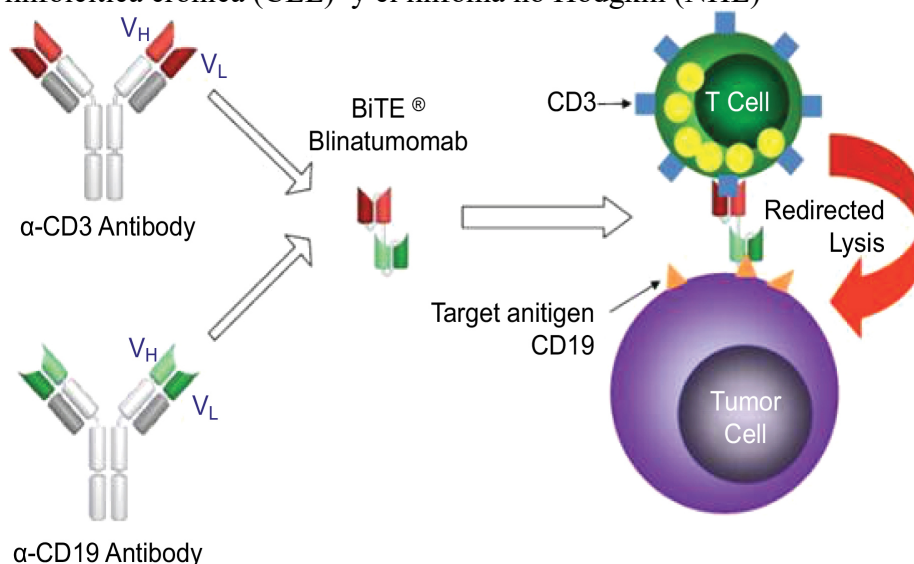


Fig 9. Mecanismo de acción de blinatumomab.

5.2.2.2.1 Farmacocinética y farmacodinámica

La actividad in vivo de este anticuerpo fue estudiada en chimpancé puesto que es el único animal que muestra lisis de LB y producción de citoquinas equiparable a humanos. Según el escalamiento de dosis en un único chimpancé la vida media del blinatumomab es de 2 horas y su eliminación total se produce en las 8 horas posteriores a la infusión. Se observó un aumento de las concentraciones de IL-6, IL-2, IFN γ , CD25, CD69 y de CMH-II en células CD8⁺, además de la disminución progresiva de Los LB CD19⁺. El blinatumomab se debe administrar en infusión intravenosa continua debido al bajo tiempo de vida media que posee. La pauta de dosificación es de 9 μ g/día durante los primeros 7 días, seguido de 28 μ g/día durante 4 semanas cada 6 semanas con un máximo de 5 ciclos en población adulta. Los efectos adversos más comunes son CRS, dolor de cabeza, neutropenia febril y edema periférico.⁽²⁾

La pérdida de la expresión del antígeno es otro mecanismo de escape en inmunoterapia, por ejemplo en el tratamiento con blinatumomab, pacientes adultos con LLA de LB sufrían recaídas por la pérdida del antígeno CD19, por lo que añadir al tratamiento moléculas que bloqueen los puntos de regulación inmunológico que eviten la pérdida del antígeno puede ser una buena estrategia.⁽⁷⁾

5.2.3 ANTICUERPOS BI-ESPECÍFICOS EN DESARROLLO

Además del Blinatumomab otros BiTEs se encuentran en ensayo clínico tras haber sido demostrada su alta actividad antitumoral, algunos ejemplos son el anti-EpCAM/CD3 MT-110, anti-CEA (antígeno carcinoembrionario)/CD3 MT-111 y antiPSMA/CD3 AMG

212. Existen otros formatos de anticuerpos bi-específicos que se encuentran también en estudio como el anti-DLL4/anti-VEGF OMP-305B83. ⁽²³⁾

5.2.3.1 Navicixizumab (OMP-305B83)

OMP-305B83 es un anticuerpo bi-específico de dominio variable dual humano (DVG-Ig) anti-DLL4 (delta-like ligand 4) y anti-VEGF (factor de crecimiento endotelial) que inhibe la angiogénesis del tumor, por un lado el dominio variable de unión a DLL4 bloquea la señalización tumoral mediante la unión a esta proteína y a su vez el brazo anti VEGF impide la unión de este factor a su receptor en las células disminuyendo la proliferación endotelial. Algunos estudios han demostrado que el bloqueo de DLL4 conlleva una mayor regulación de VEGF y a la proliferación endotelial. Por lo tanto, OMP-305B83 evita este mecanismo de resistencia a la inhibición de forma única de la DLL4.

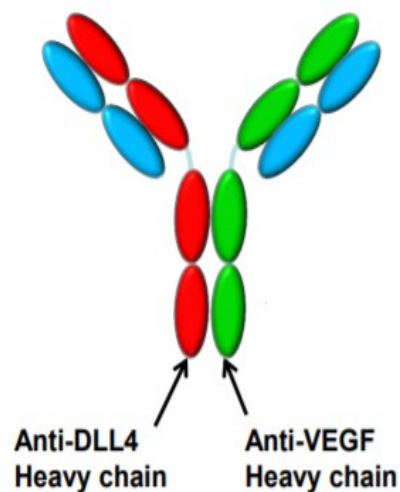


Fig 10. Navicixizumab.

Modelos de xenoinjertos de cáncer de colon tratados con OMP305B83 demostraron una mayor reducción del tamaño del tumor en comparación con modelos tratados únicamente con bevacizumab (anticuerpo mono específico anti-VEGF). Otros modelos tratados con la combinación irinotecan y OMP305B83 mostraron también una mayor disminución de volumen del tumor en comparación con el tratamiento con irinotecan, solo o en combinación con bevacizumab. Los resultados del estudio de fase I de escalamiento de dosis en pacientes con tumores sólidos demostraron que a dosis de 10 mg/kg i.v aparecía hipertensión pulmonar, proteinuria y leucoencefalopatía reversible, por lo que se estableció la dosis en 7,5 mg/Kg i.v. Los efectos adversos más comunes son hipertensión, cefalea e hipertensión pulmonar. Actualmente el ensayo se encuentra en fase de expansión. ⁽⁷⁾

5.2.3.2 RO6958688/RG7802

Denominado MT111, AMG211 o MEDI-565 es un BiTE producido mediante la tecnología Crossmab con una Fab anti-CD3 y otros dos dominios Fab que se unen al antígeno CEA humano que expresan las células tumorales y una región Fc silenciada, de tal forma que no se una a FcR ni a C1q. El antígeno CEA se expresa en muchos carcinomas como el colorrectal, el pancreático, el gástrico, y también en cáncer de mama y de pulmón no microcítico ⁽²⁴⁾. El CEA interviene en la adhesión de células cancerosas, migración e invasión. Este BiTE provoca una respuesta citotóxica de los LT hacia las células tumorales que expresen CEA. ^(7, 14)

Se ha comprobado una regresión del carcinoma de colon humano con el tratamiento con MT111 en modelos de xenoinjerto en ratones. Lehmann et al realizaron estudios in vivo que demostraron que MT111 produjo un aumento de la lisis de las células tumorales mediada por LT, estos estudios preclínicos fueron llevados a estudios de fase Ia y Ib. En uno de estos estudios de fase I de escalado de dosis se administraba el anticuerpo en monoterapia a 80 pacientes con dosis entre 0,05 mg y 600 mg i.v quincenalmente. En el segundo estudio de fase I se administró a 38 pacientes una combinación de MT111 con Atezolizumab, un anticuerpo monoclonal antiPD-L1, con dosis i.v semanal de 5mg a 160mg de MT111 y 1200 mg de Atezolizumab. En ambos estudios las dosis fueron bien toleradas y los efectos adversos más frecuentes fueron la pirexia, diarrea, disnea, hipoxia e insuficiencia respiratoria. Dos pacientes del primer estudio y dos del segundo obtuvieron respuestas parciales mientras que 4 pacientes del primero y 5 del segundo consiguieron una estabilización de la enfermedad. Actualmente se encuentra en desarrollo un estudio para evaluar la seguridad y tolerabilidad de la administración discontinua por infusión intravenosa durante 3 horas en 5 días consecutivos cada 28 días en adenocarcinomas gastrointestinales, con dosis inicial de 0,75 mg.⁽²⁾

5.2.3.3 AFM13

AFM13 es un anticuerpo bi-específico tetravalente quimérico, un diabody, que se une por dos de sus Fab al antígeno CD30 expresado en células tumorales y con sus otros dos sitios de unión a CD16 expresado en las células NK. CD30 se expresa en linfomas malignos y AFM13 está diseñado para el reclutamiento y activación de las células NK y como resultado la lisis de estas células tumorales. Los estudios preclínicos fueron prometedores y demostraron una potente citotoxicidad en líneas celulares tumorales CD30 positivas y en ausencia de CD30, el anticuerpo no provocó la activación de las células NK. En los estudios de fase I el tratamiento fue bien tolerado, se llevó a cabo en 28 pacientes con recaída de Linfoma no Hodgkin, recibiendo dosis entre 0.01 y 0.017 mg/kg de AFM13 para evaluar la tolerabilidad y la seguridad con una toxicidad limitante de la dosis que fue anemia hemolítica y con efectos adversos como fiebre, dolor de cabeza, escalofríos, náuseas, sarpullido, vómitos y neumonía. En la actualidad se encuentra en ensayos de fase II.^(7, 14)

5.2.3.4 Solitomab (AMG110/ MT110)

MT110 es una glicoproteína de 40 kDa BiTE anti EpCAM/CD3 en desarrollo clínico para el tratamiento de adenocarcinomas y células iniciadoras de tumores que expresan EpCAM (molécula de adhesión celular epitelial) mediante la lisis dirigida de las células diana por LT. EpCAM aumenta la proliferación, migración e invasión de las células tumorales, la sobreexpresión de esta proteína está relacionada con mal pronóstico. La accesibilidad en tejidos normales de la EpCAM está reducida, lo que aporta selectividad al tratamiento. Se ha demostrado la capacidad citotóxica del Solitomab mediante el reclutamiento de células T en estudios preclínicos, con una importante actividad in vitro.⁽²⁵⁾

En ensayos de fase I de Solitomab, para 51 pacientes con cáncer colorrectal, gástrico, pulmonar, próstata y ovario, la diarrea y la elevación de las enzimas hepáticas delimitaron la dosis de toxicidad (DLT) aunque esta elevación de las transaminasas fue reversible y aplacada con dexametasona. Para evitar este aumento transitorio de las enzimas hepáticas se realizó un escalamiento de dosis al inicio del ciclo, aunque aún no se ha determinado la DMT. Otros efectos adversos fueron linfopenia transitoria, náuseas, vómitos e hipoalbuminemia. A pesar de que no existen aun respuestas clínicas se observó una reducción del tumor con dosis de 24 mg/día. La escalada de dosis está en proceso.⁽²⁾

5.2.3.5 AMG 212/ BAY2010112

El AMG 212 o BAY2010112 es un anticuerpo bi-específico BiTE de cadena única que se une al antígeno de membrana anti prostático específico PSMA. Esta enzima se expresa en los tumores de próstata y está restringido en tejido prostático normal. En los estudios preclínicos con modelos de xenoinjertos AMG 212 inhibió la formación del tumor e indujo su regresión. En la actualidad se está realizando un estudio de escalado de dosis en pacientes con cáncer de próstata, este será el primer BiTE que se administre en forma de inyección subcutánea hasta remisión de la enfermedad. ^(2, 26)

5.2.4 VENTAJAS Y LIMITACIONES DEL USO DE ANTICUERPOS BI-ESPECIFICOS

5.2.4.1 Beneficios terapéuticos

Los primeros estudios con anticuerpos bi-específicos no obtuvieron buenos resultados debido a la baja estabilidad y la inmunogenicidad. El desarrollo de la ingeniería de proteínas permitió la obtención de nuevos anticuerpos bi-específicos con mejores propiedades farmacocinéticas y especialmente se ha superado la limitación del bajo rendimiento en la producción. A pesar de los avances, la inmunogenicidad continúa siendo un problema. ⁽⁵⁾

Estos avances han provocado que la industria farmacéutica recupere la atención por los anticuerpos. El mecanismo principal de estos anticuerpos, por el que están reclamando tanta atención, es su potencial para reclutar células inmunitarias efectoras para la lisis de tumores, asimismo tienen un papel clave en la inmunovigilancia y pueden ser empleados para disminuir la resistencia a quimioterápicos. Además de su uso como inmunoterapia antitumoral pueden emplearse en neutralización de VIH o enfermedades inflamatorias. ⁽³⁾

5.2.4.2 Limitaciones/ mecanismos de escape

Existen muchos pacientes que no responden a la inmunoterapia o que sufren una recaída a pesar de las altas tasas de respuesta con este tipo de tratamiento. Esto se debe a que surgen mecanismos de resistencia como mutaciones, pérdida de expresión del antígeno tumoral, falta de expresión de HLA, y expresión de PD-L1. También se produce la resistencia inducida por linfocitos T reguladores (Treg), macrófagos y factores como IL-10 o TGF- β . ⁽³⁾

6 CONCLUSIONES

Los BsAb pueden ser la próxima generación de anticuerpos empleados en estrategias antitumorales, su objetivo principal es tratar simultáneamente distintos blancos involucrados en la patología, aumentando la eficacia terapéutica. Las terapias con ataque multifocal pueden ser beneficiosas para el tratamiento de tumores, debido a su naturaleza heterogénea ya que poseen una amplia variedad de mutaciones en las células tumorales, y pueden derivar en una curación del tumor a largo plazo. Los anticuerpos bi-específicos han abierto un nuevo frente en la investigación y son una poderosa herramienta para el tratamiento del cáncer. Estudios clínicos han demostrado que presentan una potente eficacia antitumoral. Dicha eficacia es mayor en las neoplasias hematológicas que en tumores sólidos, aunque se espera poder aplicar los avances de la hematología en el desarrollo de bi-específicos frente a tumores sólidos, a día de hoy existen varios en ensayos clínicos.

El descubrimiento de nuevas dianas antigénicas es uno de los mayores desafíos para el desarrollo de nuevos anticuerpos, pero a medida que progresen los estudios del proteoma humano se dispondrá de nuevos blancos. El avance en este campo también se encuentra

limitado por los métodos de fabricación, que deben ser más baratos y rápidos, y la combinación con otras terapias como los inhibidores de la regulación.

Debido a su alta eficacia existen múltiples anticuerpos bi-específicos en diferentes fases de ensayo clínico. La diversidad de formatos supone nuevas posibilidades y aplicaciones; como la capacidad de unirse y neutralizar distintos blancos, la redirección de células inmunitarias efectoras para producir la lisis de las células tumorales, su uso como transportador de sustancias tóxicas al tumor, o el bloqueo de cascadas de señalización. Los próximos avances se centrarán en el desarrollo de nuevos formatos para adaptarse a la complejidad tumoral. A pesar de su futuro prometedor, los BsAbs se enfrentan todavía a varios desafíos como son la simplificación del procedimiento de producción, la creación de BsAbs no inmunogénicos, evitar la evasión de la respuesta inmune por mecanismos de escape y la minimización de los efectos adversos. Otros aspectos que deben abordarse son las propiedades farmacocinéticas, ya que los BiTE deben administrarse en infusión intravenosa continua, aunque se están estudiando algunas estrategias alternativas que aumenten la vida media como la pegilación o la unión a albúmina.

Gracias a la entrada en el mercado del Catumaxomab y Blinatumomab ha aumentado el número de BsAbs que son introducidos en ensayos clínicos. Este tipo de anticuerpos amplían las aplicaciones terapéuticas de los MAbs a términos anteriormente inimaginables, por lo que es esperable un aumento de anticuerpos terapéuticos contra nuevos blancos en el mercado, además del desarrollo de nuevas estructuras, usos y estrategias terapéuticas.

7 BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional del Cáncer. Células T y CAR: manipulación de células inmunitarias de pacientes para tratar sus cánceres [Internet]. Instituto Nacional del Cáncer [Cited 13 apr 2019]. Available from <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/investigacion/celulas-t-y-car>.
2. Frankel SR, Baeuerle PA. Targeting T cells to tumor cells using bispecific antibodies. *Curr Opin Chem Biol.* 2013;17(3):385-92.
3. Spasevska I. An outlook on bispecific antibodies: Methods of production and therapeutic benefits. *BioSciences Master Reviews.* 2013.
4. Langjahr P, Sotelo P. Presente y futuro de los anticuerpos recombinantes terapéuticos. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud.* 2016;14(2):110-21.
5. Thakur A, Huang M, Lum LG. Bispecific antibody based therapeutics: Strengths and challenges. *Blood Rev.* 2018;32(4):339-47.
6. CORDIS. Analysis of regulatory T cell proliferation and apoptosis in vivo at the cellular and molecular level [Internet]. CORDIS Resultados de investigaciones de la UE [Cited 20 apr 2019]. Available from <https://cordis.europa.eu/project/rcn/94630/brief/es>.
7. Krishnamurthy A, Jimeno A. Bispecific antibodies for cancer therapy: A review. *Pharmacol Ther.* 2018;185:122-34.
8. Chiu ML, Gilliland GL. Engineering antibody therapeutics. *Curr Opin Struct Biol.* 2016;38:163-73.
9. Yang F, Wen W, Qin W. Bispecific Antibodies as a Development Platform for New Concepts and Treatment Strategies. *International Journal of Molecular Sciences.* 2017;18(1):48.
10. Kontermann RE, Brinkmann U. Bispecific antibodies. *Drug Discov Today.* 2015;20(7):838-47.
11. Saber H, Del Valle P, Ricks TK, Leighton JK. An FDA oncology analysis of CD3 bispecific constructs and first-in-human dose selection. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2017;90:144-52.
12. Sedykh SE, Prinz VV, Buneva VN, Nevinsky GA. Bispecific antibodies: design, therapy, perspectives. *Drug Des Devel Ther.* 2018;12:195-208.
13. Yu L, Wang J. T cell-redirecting bispecific antibodies in cancer immunotherapy: recent advances. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2019;145(4):941-56.
14. Chen S, Li J, Li Q, Wang Z. Bispecific antibodies in cancer immunotherapy. *Hum Vaccin Immunother.* 2016;12(10):2491-500.

15. Reusch U, Harrington KH, Gudgeon CJ, Fucek I, Ellwanger K, Weichel M, et al. Characterization of CD33/CD3 Tetravalent Bispecific Tandem Diabodies (TandAbs) for the Treatment of Acute Myeloid Leukemia. *Clin Cancer Res.* 2016;22(23):5829-38.
16. Vallera DA, Todhunter DA, Kuroki DW, Shu Y, Sicheneder A, Chen H. A bispecific recombinant immunotoxin, DT2219, targeting human CD19 and CD22 receptors in a mouse xenograft model of B-cell leukemia/lymphoma. *Clin Cancer Res.* 2005;11(10):3879-88.
17. The American Cancer Society medical and editorial content team. Immunotherapy for Colorectal Cancer [Internet]. American Cancer Society [cited 4 may 2019]. Available from <https://www.cancer.org/cancer/colon-rectal-cancer/treating/immunotherapy.html>.
18. Yu S, Liu Q, Han X, Qin S, Zhao W, Li A, et al. Development and clinical application of anti-HER2 monoclonal and bispecific antibodies for cancer treatment. *Exp Hematol Oncol.* 2017;6:31.
19. Seimetz D, Lindhofer H, Bokemeyer C. Development and approval of the trifunctional antibody catumaxomab (anti-EpCAM×anti-CD3) as a targeted cancer immunotherapy. *Cancer Treatment Reviews.* 2010;36(6):458-67.
20. EMA. Removab: Withdrawal of the marketing authorisation in the European Union [Internet]. European Medicines Agency [cited 2 may 2019]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/public-statement/public-statement-removab-withdrawal-marketing-authorisation-european-union_en.pdf.
21. Zugmaier G, Klinger M, Schmidt M, Subklewe M. Clinical overview of anti-CD19 BiTE((R)) and ex vivo data from anti-CD33 BiTE((R)) as examples for retargeting T cells in hematologic malignancies. *Mol Immunol.* 2015;67(2 Pt A):58-66.
22. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Blincyto, INN-blinatumomab [Internet]. Centro de información online de medicamentos de la AEMPS – CIMA [cited 27 apr 2019]. Available from https://cima.aemps.es/cima/pdfs/ft/1151047001/FT_1151047001.pdf
23. ClinicalTrials.gov [Internet]. U.S. National Library of Medicine. c2018- [cited 10 may 2019]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/>.
24. SEOM. Información sobre tipos de cáncer [Internet]. Sociedad Española de Oncología Médica [cited 2 may 2019]. Available from <https://seom.org/informacion-sobre-el-cancer/info-tipos-cancer>.
25. Haas C, Krinner E, Brischwein K, Hoffmann P, Lutterbuse R, Schlereth B, et al. Mode of cytotoxic action of T cell-engaging BiTE antibody MT110. *Immunobiology.* 2009;214(6):441-53.
26. Friedrich M, Raum T, Lutterbuse R, Voelkel M, Deegen P, Rau D, et al. Regression of human prostate cancer xenografts in mice by AMG 212/BAY2010112, a novel PSMA/CD3-Bispecific BiTE antibody cross-reactive with non-human primate antigens. *Mol Cancer Ther.* 2012;11(12):2664-73.

Fig 1. Autoría propia.

Fig 2. Abbvie. Bispecific antibodies [Internet]. 2019 [cited 13 may 2019]. Available from: <https://www.abbviescience.com/oncology/cancer-research/bispecific-antibodies>.

Fig 3. Creative Biolabs. Schematic diagram of KIH BsAb generation [Internet]. 2013 [cited 13 may 2019]. Available from: <https://www.creativebiolabs.net/knobs-in-holes-bispecific-antibody-kih-bsab.htm>.

Fig 4. Klein C, Schaefer W, Regula JT, Dumontet C, Brinkmann U, Bacac M, et al. Engineering therapeutic bispecific antibodies using CrossMab technology. *Methods.* 2019;154:21-31.

Fig 5. Liu H, Saxena A, S. Sidhu S, Wu D. Fc Engineering for Developing Therapeutic Bispecific Antibodies and Novel Scaffolds 2017.

Fig 6. Postow MA, Callahan MK, Wolchok JD. The antitumor immunity of ipilimumab: (T-cell) memories to last a lifetime? *Clin Cancer Res.* 2012;18(7):1821-3.

Fig 7. Yu S, Liu Q, Han X, Qin S, Zhao W, Li A, et al. Development and clinical application of anti-HER2 monoclonal and bispecific antibodies for cancer treatment. *Exp Hematol Oncol.* 2017;6:31.

Fig 8. Maher J, Adami AA. Antitumor immunity: easy as 1, 2, 3 with monoclonal bispecific trifunctional antibodies? *Cancer Res.* 2013;73(18):5613-7.

Fig 9. Hathaway L, Sen JM, Keng M. Impact of blinatumomab on patient outcomes in relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia: evidence to date. *Patient Relat Outcome Meas.* 2018;9:329-37.

Fig 10. OncoMed. Navicixizumab [Internet]. 2018 [cited 13 may 2019]. Available from: <https://seekingalpha.com/article/4211908-oncomed-undervalued-promising-pipeline>.