

Immunoterapia passiva e anticorpi monoclonali

Prof. Giuseppe Novelli
Direttore UOC Genetica Medica
Policlinico Universitario Tor Vergata Roma, Italia
Department of Pharmacology
University of Nevada, Reno (USA)

La grave sindrome respiratoria acuta coronavirus 2 (SARS – CoV-2) associata alla malattia emergente COVID-19 ha determinato una crisi sanitaria globale senza precedenti.

Ad oggi, non ci sono opzioni comprovate relativamente ad una profilassi per coloro che sono stati esposti all'agente eziologico, né terapie efficaci per coloro che sviluppano la malattia COVID-19.

Immunoterapia passiva

Il plasma immunitario (convalescente) si riferisce al plasma che viene raccolto da soggetti esposti al virus e che hanno sviluppato anticorpi in seguito alla risoluzione dell'infezione. La somministrazione passiva di questi anticorpi attraverso la trasfusione di plasma convalescente può costituire una strategia a breve termine che ha lo scopo di conferire l'immunità immediata a soggetti sensibili. Il plasma convalescente è stato usato in passato con successo come profilassi post-esposizione e nel trattamento terapeutico di altri focolai da coronavirus (ad esempio, SARS-1 e la sindrome respiratoria del Medio Oriente [MERS]) e altre patologie infiammatorie autoimmuni e croniche, come dermatomiosite, malattia di Kawasaki, sclerosi multipla, lupus, leucemia linfocitica cronica e porpora trombocitopenica idiopatica).

Il plasma convalescente è stato utilizzato anche nella pandemia di COVID-19 in pochi casi pubblicati in Cina, in Italia e in altri Paesi con alcuni benefici clinici documentati a livello radiologico, di laboratorio e da una migliore sopravvivenza. Ciò nonostante, queste prime esperienze riguardano sperimentazioni retrospettive, non randomizzate e senza standardizzazione di qualità e quantità di anticorpi.

I dati provenienti da studi clinici rigorosamente controllati (pochi, al momento), sottolineano la necessità di valutare ulteriormente in modo obiettivo e su casistiche estese l'efficacia in termini di prevenzione vs. trattamento e la correlazione con sottopopolazioni di pazienti stratificati per età, comorbidità etc. Vi è anche ancora incertezza sui criteri di eleggibilità dei donatori. Non è ancora definito se tra i criteri debbono essere anche inclusi le sottoclassi totali di anticorpi presenti nel soggetto (ad esempio, IgM, IgG o IgA) ovvero quale sia il dosaggio ottimale di questi e quale antigene virale sia più informativo. Inoltre, tra le implicazioni biologiche vengono incluse le infezioni secondarie da altri virus (rischio ridotto ma non nullo), reazioni immuni a costituenti del siero, edema polmonare. Quest'ultimo può essere causato da alterata permeabilità (*transfusion-related acute lung injury* – TRALI) con meccanismo immuno-mediato o di tipo idrostatico (*transfusion-associated circulatory overload* – TACO). A questi si aggiungono rischi (rari, ma non troppo) legati all'aumento dell'infezione dipendente da anticorpi (ADE), un processo per cui anticorpi virus-specifici aumentano e facilitano l'ingresso del virus nella cellula; attenuata risposta immunitaria ovvero, gli individui potrebbero essere soggetti ad una reinfezione (evitabile se disponessimo di un vaccino). Al momento si ritiene che le persone vulnerabili e gli anziani potrebbero essere dei buoni candidati per questo tipo di trattamento.

La terapia con plasma convalescente necessita di valutazioni accurate che riguardano non solo gli aspetti biologici, ma anche quelli burocratici, logistici ed amministrativi per l'identificazione, il consenso, la raccolta e la verifica dei donatori (non tutti i pazienti guariti hanno anticorpi rivelabili nella fase convalescente).

L'immunoterapia passiva con plasma derivato da pazienti convalescenti che si stanno riprendendo dall'infezione da SARS-CoV-2 può essere quindi un approccio promettente nel trattamento dei pazienti con COVID-19. È necessario ed importante che i Centri Trasfusionali siano adeguatamente pronti a soddisfare le richieste di plasma immunitario definendo bene i requisiti applicabili ai donatori di plasma, gli standard di preparazione, la qualificazione, la conservazione, la distribuzione e il controllo dell'uso del prodotto (Position Paper Società Italiana Medicina Trasfusionale, <http://www.bloodtransfusion.it/articolo.aspx?idart=003303&idriv=000151>)

L'immunoterapia passiva può quindi essere considerato un approccio terapeutico importante, ma necessita necessariamente la sperimentazione con studi clinici ben controllati per confermare l'efficacia, fornendo in tal modo il processo decisionale razionale basato sull'evidenza.

Anticorpi Monoclonali

Gli anticorpi monoclonali (mAb o moAb) sono immunoglobuline identiche, generate da un singolo clone di cellule B. Questi anticorpi riconoscono epitopi unici o siti di legame su un singolo antigene. In medicina, gli anticorpi monoclonali hanno un ruolo sempre crescente negli ultimi anni soprattutto nel trattamento delle malattie autoimmuni e del cancro. Gli anticorpi monoclonali sono progettati per riconoscere specificamente un unico, determinato antigene e si legano ad esso neutralizzandolo. Esistono quattro tipi di anticorpi monoclonali (MAB):

- *murini* (-omab), interamente derivati da cellule di topo. Possono portare a una [reazione allergica](#) negli esseri umani;
- *chimerici* (-ximab), ottenuti mediante tecniche di biologia molecolare che consentono di sostituire alcune parti dell'anticorpo monoclonale derivato da cellule di topo (la regione costante) con la corrispondente parte di proteina di origine umana. Possono causare allergia;
- *umanizzati* (-zumab), derivati principalmente da cellule umane ad eccezione della parte dell'anticorpo che si lega all'antigene bersaglio;
- *umani* (-umab), interamente derivati da cellule umane

Poiché sia SARS-CoV che SARS-CoV-2 (2019-nCoV) hanno lo stesso recettore per l'ingresso del virus, i potenziali bioterapici per prevenire l'ingresso della SARS potrebbero essere estrapolati da utilizzare per SARS-CoV-2. Tra gli approcci immunoterapici per bloccare l'attacco o l'ingresso del virus, gli anticorpi monoclonali sono preferiti a causa della loro specificità, purezza, basso rischio di contaminazione da patogeni ematici e sicurezza rispetto alla terapia sierica e ai preparati immunoglobulinici endovenosi. La somministrazione passiva di anticorpi monoclonali (mAb) potrebbe avere un impatto notevole sul controllo della pandemia di SARS-CoV-2 fornendo una protezione immediata, integrando lo sviluppo di vaccini profilattici.

Oggi vengono utilizzati diversi approcci per la creazione di anticorpi che reagiscono con l'obiettivo desiderato:

- produzione in modelli animali;
- Isolamento da pazienti;
- Anticorpi sintetici da screening di “librerie” di anticorpi (costruita utilizzando tecniche molecolari o acquistati) può essere vagliata *in vitro* per il legame con un antigene bersaglio. Le biblioteche variano ampiamente per dimensioni e diversità. Le librerie vengono generate con ingegneria genetica nei batteriofagi (un virus che infetta i batteri) in modo tale che ciascun clone di batteriofago produca un singolo anticorpo o frammento di anticorpo. Una delle librerie migliori che conosciamo (utilizzata da recentemente da noi in collaborazione con l’Università di Toronto e Harvard Medical School) è la “Toronto Recombinant Antibody Centre” (TRAC) (<https://ccbr.utoronto.ca/toronto-recombinant-antibody-centre>)
Esempi di mAb terapeutici derivati da una libreria fagica includono adalimumab, raxibacumab e belimumab.

Una volta ottenuto un mAb con una specificità desiderata, deve essere prodotto in grandi quantità per uso terapeutico con tecniche cellulari e molecolari. Oggi le tecnologie disponibili consentono di ottenere anticorpi monoclonali in grandi quantità in circa 5-6 mesi.

Attualmente vi sono almeno 10 gruppi al mondo attivi nella identificazione e produzione di anticorpi monoclonali contro SARS-CoV-2, tra cui il nostro, in collaborazione con VIRNA Therapeutics (<https://virmatherapeutics.com/>). Le prime sperimentazioni cliniche (Fase 1 e 2) sono attese per la fine di giugno (New York University's Grossman School of Medicine in New York, Cedars-Sinai in Los Angeles and Emory University in Atlanta, Eli Lilly) e ci auguriamo anche quella simultanea Italia, Canada e India promossa da VIRNA Therapeutics e Università Tor Vergata.

Sebbene la protezione terapeutica, mediata da anticorpi monoclonali contro la SARS-CoV-2, non sia ancora stata dimostrata, tutte le ricerche fino ad oggi pubblicate suggeriscono che la neutralizzazione del virus mediante anticorpi monoclonali potrebbe costituire la terapia ideale e diretta contro COVID-19.

Allo stato attuale non esiste un singolo vaccino specifico o una terapia antivirale efficace contro la SARS-CoV-2. Diverse aziende farmaceutiche e biotecnologiche stanno lavorando allo sviluppo del vaccino e stimano che questo vaccino impiegherà anni per svilupparsi e testarsi prima di raggiungere una vasta popolazione.

Pertanto, la progettazione e lo sviluppo di piattaforme avanzate di produzione di anticorpi monoclonali è urgente per disporre di terapie mirate anche in considerazione della fase di ripartenza economica e sociale e consentire agli ospedali di operare a pieno regime in assenza di un vaccino.

Bibliografia Essenziale

1: Salazar E, Perez KK, Ashraf M, Chen J, Castillo B, Christensen PA, Eubank T, Bernard DW, Eagar TN, Long SW, Subedi S, Olsen RJ, Leveque C, Schwartz MR, Dey M, Chavez-East C, Rogers J, Shehabeldin A, Joseph D, Williams G, Thomas K, Masud F, Talley C, Dlouhy KG, Lopez BV, Hampton C, Lavinder J, Gollihar JD, Maranhao AC, Ippolito GC, Saavedra MO, Cantu CC, Yerramilli P, Pruitt L, Musser JM.

Treatment of COVID-19 Patients with Convalescent Plasma. *Am J Pathol.* 2020 May 27;S0002-9440(20)30257-1. doi: 10.1016/j.ajpath.2020.05.014. Epub ahead of print. PMID: 32473109; PMCID: PMC7251400.

2: Perotti C, Del Fante C, Baldanti F, Franchini M, Percivalle E, Vecchio Nepita E, Seminari E, De Silvestri A, Bruno R, Klersy C. Plasma from donors recovered from the new Coronavirus 2019 as therapy for critical patients with COVID-19 (COVID-19 plasma study): a multicentre study protocol. *Intern Emerg Med.* 2020 May 28. doi: 10.1007/s11739-020-02384-2. Epub ahead of print. PMID: 32468508.

3: Kong Y, Cai C, Ling L, Zeng L, Wu M, Wu Y, Zhang W, Liu Z. Successful treatment of a centenarian with coronavirus disease 2019 (COVID-19) using convalescent plasma. *Transfus Apher Sci.* 2020 May 21:102820. doi: 10.1016/j.transci.2020.102820. Epub ahead of print. PMID: 32467007; PMCID: PMC7239781.

4: Accorsi P, Berti P, de Angelis V, De Silvestro G, Mascaretti L, Ostuni A; Italian Society for Transfusion Medicine and Immunohaematology (SIMITI) and the Italian Society for Haemapheresis and Cell Manipulation (SIdEM). Position paper on the preparation of immune plasma to be used in the treatment of patients with COVID-19. *Blood Transfus.* 2020 May;18(3):163-166. doi: 10.2450/2020.0124-20. PMID: 32453687.

5: Tai W, Zhang X, He Y, Jiang S, Du L. Identification of SARS-CoV RBD-targeting monoclonal antibodies with cross-reactive or neutralizing activity against SARS-CoV-2. *Antiviral Res.* 2020 May 13;179:104820. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104820. Epub ahead of print. PMID: 32475809.

6: Ju B, Zhang Q, Ge J, Wang R, Sun J, Ge X, Yu J, Shan S, Zhou B, Song S, Tang X, Yu J, Lan J, Yuan J, Wang H, Zhao J, Zhang S, Wang Y, Shi X, Liu L, Zhao J, Wang X, Zhang Z, Zhang L. Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. *Nature.* 2020 May 26. doi: 10.1038/s41586-020-2380-z. Epub ahead of print. PMID: 32454513.

7: Shi R, Shan C, Duan X, Chen Z, Liu P, Song J, Song T, Bi X, Han C, Wu L, Gao G, Hu X, Zhang Y, Tong Z, Huang W, Liu WJ, Wu G, Zhang B, Wang L, Qi J, Feng H, Wang FS, Wang Q, Gao GF, Yuan Z, Yan J. A human neutralizing antibody targets the receptor binding site of SARS-CoV-2. *Nature.* 2020 May 26. doi: 10.1038/s41586-020-2381-y. Epub ahead of print. PMID: 32454512.

8: Pooladanda V, Thatikonda S, Godugu C. The current understanding and potential therapeutic options to combat COVID-19. *Life Sci.* 2020 May 8:117765. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117765. Epub ahead of print. PMID: 32437797; PMCID: PMC7207108.

9: Pinto D, Park YJ, Beltramello M, Walls AC, Tortorici MA, Bianchi S, Jaconi S, Culap K, Zatta F, De Marco A, Peter A, Guarino B, Spreafico R, Cameroni E, Case JB, Chen RE, Havenar-Daughton C, Snell G, Telenti A, Virgin HW, Lanzavecchia A,

Diamond MS, Fink K, Veessler D, Corti D. Cross-neutralization of SARS-CoV-2 by a human monoclonal SARS-CoV antibody. *Nature*. 2020 May 18. doi: 10.1038/s41586-020-2349-y. Epub ahead of print. PMID: 32422645.

10: Corrêa Giron C, Laaksonen A, Barroso da Silva FL. On the interactions of the receptor-binding domain of SARS-CoV-1 and SARS-CoV-2 spike proteins with monoclonal antibodies and the receptor ACE2. *Virus Res*. 2020 May 15;285:198021. doi: 10.1016/j.virusres.2020.198021. Epub ahead of print. PMID: 32416259; PMCID: PMC7228703.

11: Yi C, Sun X, Ye J, Ding L, Liu M, Yang Z, Lu X, Zhang Y, Ma L, Gu W, Qu A, Xu J, Shi Z, Ling Z, Sun B. Key residues of the receptor binding motif in the spike protein of SARS-CoV-2 that interact with ACE2 and neutralizing antibodies. *Cell Mol Immunol*. 2020 Jun;17(6):621-630. doi: 10.1038/s41423-020-0458-z. Epub 2020 May 15. PMID: 32415260; PMCID: PMC7227451.

12: Saghazadeh A, Rezaei N. Towards treatment planning of COVID-19: Rationale and hypothesis for the use of multiple immunosuppressive agents: Anti-antibodies, immunoglobulins, and corticosteroids. *Int Immunopharmacol*. 2020 May 8;84:106560. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106560. Epub ahead of print. PMID: 32413736; PMCID: PMC7205724.

13: Bloch EM, Shoham S, Casadevall A, et al. Deployment of convalescent plasma for the prevention and treatment of COVID-19. *J Clin Invest*. 2020;130(6):2757-2765. doi:10.1172/JCI138745