

Gli anticorpi monoclonali

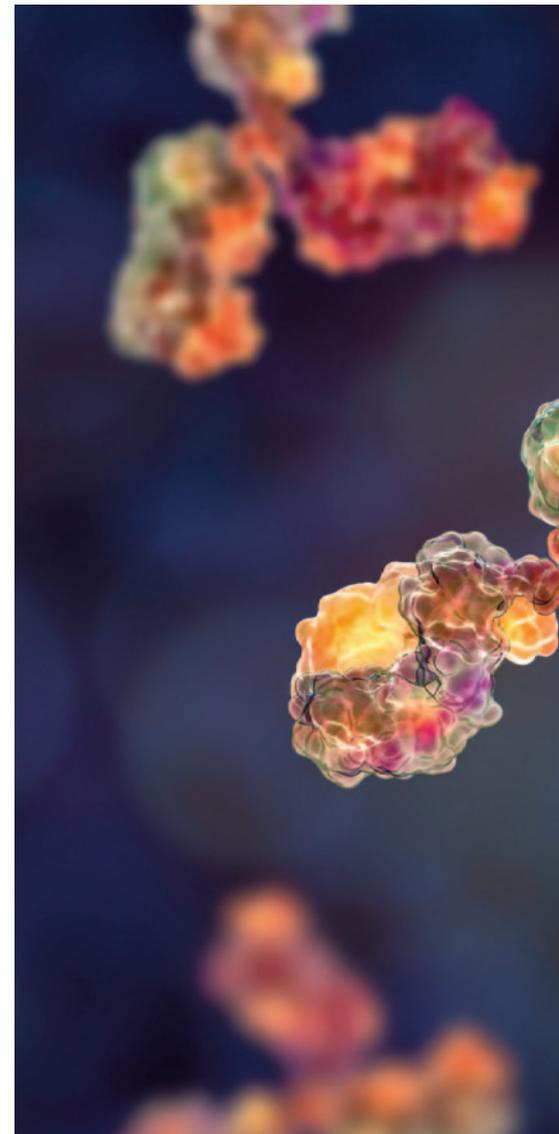
Terapia con anticorpi neutralizzanti per il covid-19

L'utilizzo degli anticorpi monoclonali come arma terapeutica risale ormai ad una trentina di anni fa quando, nel 1986, la Food and Drug Administration (FDA) approvò l'utilizzo del primo monoclonale (un anti-CD3), per il trattamento dei pazienti trapiantati. Da allora, abbiamo assistito ad una rivoluzione tecnologica che ha permesso di accelerare enormemente lo sviluppo di queste molecole ed allargare così il loro possibile utilizzo tanto che, negli ultimi anni, risultano essere la principale classe di nuovi farmaci in sviluppo (1).

Ad oggi sono più di 50 i monoclonali approvati per il trattamento di diversi tipi di tumori, malattie infiammatorie e malattie autoimmuni e hanno dimostrato un buon profilo di sicurezza. L'esperienza fatta nel corso della pandemia da SARS-CoV-2 ha dimostrato che il tempo necessario tra la definizione delle molecole, la produzione e la loro valutazione negli studi clinici si è ridotta a circa 5-6 mesi (2).

Il primo passo nella definizione e nel disegno di strategie terapeutiche monoclonali è l'identificazione della proteina bersaglio verso cui si vuole dirigere l'an-

ticorpo stesso. Nel caso del SARS-CoV2, il bersaglio molecolare è rappresentato dalla proteina Spike (S) che, riconoscendo e legando il suo recettore ACE2 (human angiotensin converting enzyme 2) espresso su diversi tipi cellulari (tratto respiratorio, cardiovascolare, digestivo e urinario) media l'attacco e l'ingresso del virus nelle cellule (3-6). La molecola S è una proteina trimerica espressa sulla superficie del SARS-CoV2. Ciascun monomero è composto da 2 regioni distinte, la porzione S1, in cui è presente il sito di legame ad ACE2 (receptor binding domain, RBD), e la porzione S2. Il

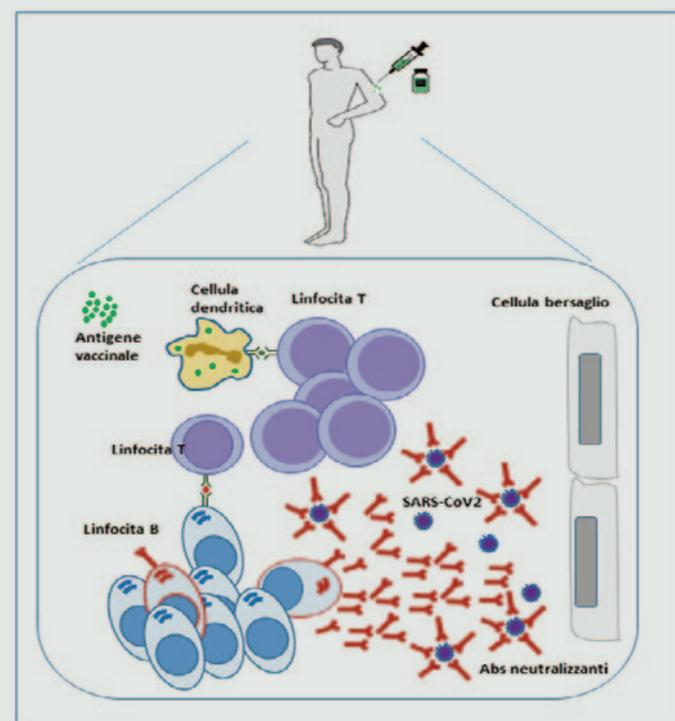


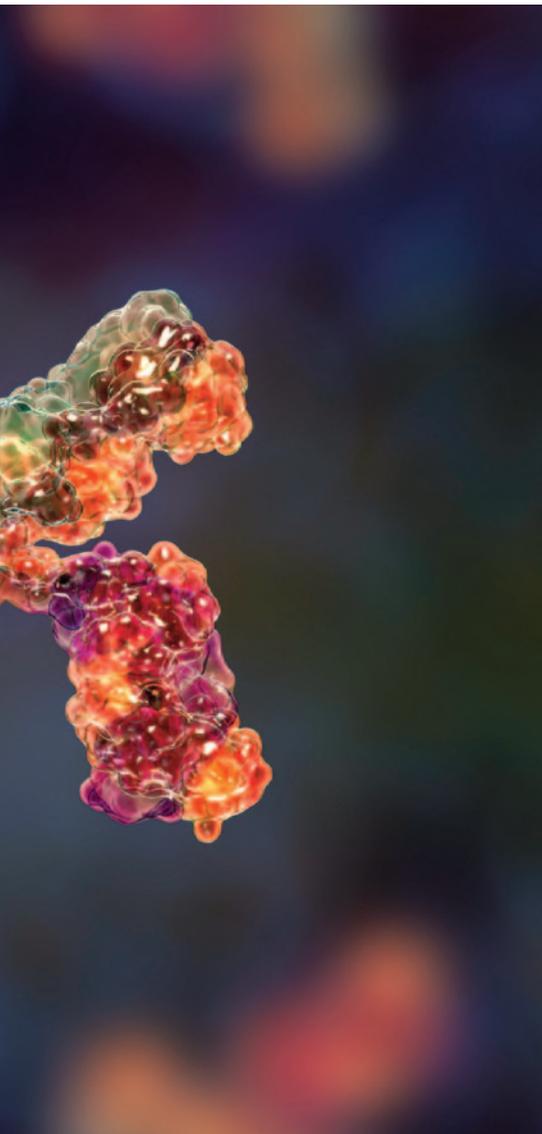
CHIARA AGRATI
Responsabile del
Laboratorio di
Immunologia
Cellulare e
Farmacologia,
INMI Lazzaro
Spallanzani

La vaccinazione rappresenta una strategia di immunizzazione attiva. L'antigene vaccinale viene inoculato nel muscolo del soggetto e induce una risposta immunitaria. In particolare esso viene presentato dalle cellule dendritiche ai linfociti T specifici per quell'antigene che si attivano e vanno incontro ad espansione clonale. Essi coadiuveranno i linfociti B specifici a produrre in maniera ottimale gli anticorpi diretti verso l'antigene vaccinale (anticorpi neutralizzanti). L'effetto finale della vaccinazione sarà dunque di avere in circolo cloni T pronti a riconoscere cellule infette e anticorpi pronti a neutralizzare l'eventuale esplosione al virus.

La terapia con anticorpi monoclonali neutralizzanti è, al contrario, una strategia di immunizzazione passiva. Dagli individui guariti dall'infezione vengono isolati i linfociti B specifici per l'antigene S e vengono screenati in vitro per individuare i cloni che producono anticorpi anti-S con elevata attività neutralizzante. Essi verranno poi ingegnerizzati e prodotti in grandi quantità e utilizzati in individui sani (approccio profilattico) o in individui infetti (approccio terapeutico).

Vaccinazione: immunizzazione attiva





legame di RBD ad ACE2 determina una modifica conformazionale dell'intera proteina S che facilita la fusione della membrana virale con quella cellulare e determina l'ingresso del virus all'interno della cellula ospite (7). La proteina S rappresenta dunque la chiave che usa il virus per entrare nelle cellule umane: bloccare l'interazione tra essa e il suo recettore tramite anticorpi monoclonali anti-RBD equivale di fatto ad impedire l'infezione stessa. Tali anticorpi vengono detti neutralizzanti proprio perché sono in grado di neutralizzare l'infettività virale e il loro titolo plasmatico rappresenta un buon surrogato per valutare la protezione da successive re-infezioni. Le tecnologie che permettono la produzione di anticorpi con una data specificità si sono evolute nel tempo, dalla tradizionale tecnica di ibridoma di topo, al phage display fino ad arrivare all'utilizzo di cellule B umane isolate direttamente da pazienti guariti o vaccinati. Dal totale dei linfociti B si selezionano quelli in grado di produrre anticorpi diretti verso l'antigene di interesse che vengono caratterizzati, selezionati e successivamente prodotti in grandi quantità.

Monoclonali e COVID-19

Nell'ambito del COVID-19, le molecole più avanti negli studi clinici sono prodotte dalle aziende Eli Lilly e Regeneron. La prima produce il bamlanivimab (LY-CoV555) e l'etesevimab (LY-CoV016), mentre la seconda produce casirivimab

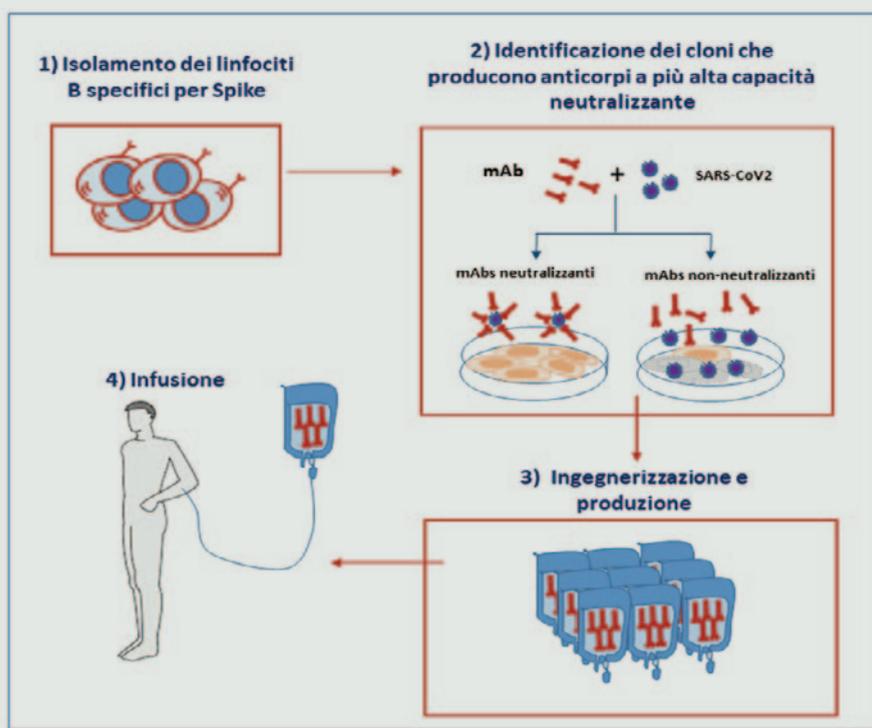
Modello 3D di anticorpo che partecipa alla difesa immunitaria. Molecola di immunoglobulina

“**Le tecnologie che permettono la produzione di anticorpi con una data specificità si sono evolute nel tempo fino ad arrivare all'utilizzo di cellule B umane isolate direttamente da pazienti guariti o vaccinati**

(REGN10933) e imdevimab (REGN10987). Accanto a questi, ci sono poi almeno un'altra dozzina di farmaci in via di sviluppo o di sperimentazione tra cui uno di AstraZeneca arrivato ai trial clinici di fase 3 e tre molecole promettenti isolate dal Monoclonal Antibody Discovery Lab della Fondazione Toscana Life Science, a Siena. Ad oggi, gli studi clinici pubblicati sull'efficacia di questi trattamenti sono ancora limitati. Un primo studio, pubblicato su *New England Journal of Medicine* a fine ottobre 2020 ha presentato i dati “ad interim” dello studio randomizzato che prevedeva una singola somministrazione di tre diverse dosi di bamlanivimab (LY-CoV555) contro il placebo (8).

I risultati hanno mostrato che il trattamento non aveva effetto sulla carica virale ma era in grado di ridurre la percentuale di pazienti che riportavano accesso al pronto soccorso/ricovero dal 6% nel gruppo placebo all'1.6% nei gruppi trattati. Un secondo lavoro è stato poi pubblicato a gennaio di quest'anno sulla prestigiosa rivista *JAMA* dove sono stati presentati i risultati dell'utilizzo di bamlanivimab in monoterapia e in combinazione con etesevimab (9). Questo studio ha confermato che la monoterapia con bamlanivimab non riesce a ridurre la carica virale a nessuna delle tre dosi testate ma, al contrario, la combinazione bamlanivimab/etesevimab si è mostrata in grado di ridurre significativamente la carica virale al giorno 11 rispetto al placebo e di ridurre il numero di pazienti che riportavano accesso al pronto soccorso/ricovero dal 5.8% per il placebo allo 0.9% nel gruppo con trattamento di combinazione. Recentemente, attraverso un comunicato stampa del 26 gennaio, la multinazionale Eli Lilly ha dichiarato che nuovi dati sull'efficacia della combinazione bamlanivimab/etesevimab dimostrano una riduzione del rischio ospedalizzazione/decesso da COVID-19 del 70% in un gruppo di circa un migliaio di persone (11 eventi nel gruppo trattato contro 36 eventi nel gruppo placebo). Tali dati però non sono ancora stati pubblicati e avrebbero comunque bisogno di essere estesi a gruppi di pazienti più ampi. I dati sperimentali ottenuti nel trial clinico di Regeneron, in cui veniva utilizzata una combinazione di due diversi anticorpi monoclonali (casirivimab e imdevimab), ha dato sostanzialmente risultati simili, riducendo la carica virale e il numero di accessi al pronto soccorso (10). Il trattamento si è mostrato più efficace nei soggetti sieronegativi (che non avevano ancora montato una propria ri-

Terapia con monoclonali: immunizzazione passiva



sposta immunitaria al virus) che presentavano un'alta carica virale e avevano altre comorbidità. Questo dato suggerisce che per ottimizzarne l'efficacia, il trattamento deve essere fatto molto precocemente dopo l'infezione in soggetti che presentano fattori di rischio per un'evoluzione severa/fatale dell'infezione. La minore efficacia osservata in individui più avanti nella loro storia di infezione (pazienti già sieropositivi) conferma come nelle fasi più tardive il danno e la severità del COVID-19 non siano tanto legati alla replicazione virale quanto piuttosto alla risposta immunitaria sbilanciata dell'ospite.

Sulla base dei dati scientifici prodotti e del contesto emergenziale della pandemia, i monoclonali di Eli Lilly e Regeneron sono stati approvati dall'FDA a novembre 2020 per il loro utilizzo precoce (entro una settimana dall'inizio dei sintomi lievi/moderati) in pazienti che presentino fattori di rischio quali l'età e/o altre comorbidità (diabete, ipertensione, bronchite cronica, obesità). Il 6 febbraio 2021 sulla base delle indicazioni dell'Agenzia italiana del farmaco e del parere del Consiglio superiore di sanità, il Ministro della Salute italiano ha firmato il decreto che autorizza la distribuzione degli anticorpi monoclonali delle aziende Eli Lilly e Regeneron per la prevenzione delle forme gravi di COVID-19 in pazienti con malattia lieve, ma considerati a rischio. L'AIFA ha ribadito il loro utilizzo unicamente in soggetti di età > 12 anni, positivi per SARS-CoV2, non ospedalizzati per COVID-19, non in ossigenoterapia per COVID-19, con sintomi di grado lieve-moderato di recente insorgenza (e comunque da non oltre 10 giorni) e presenza di almeno uno dei fattori di rischio (o almeno 2 se uno di essi è l'età > 65 anni).

Le terapie con monoclonali rappresentano dunque certamente un'opzione terapeutica interessante che è stata resa disponibile in tempi incredibilmente rapidi ma la comunità scientifica ha più volte ribadito la necessità di fare studi più ampi per valutarne al meglio le potenzialità. Infatti, questo tipo di trattamento non può essere considerato uno "standard di trattamento" per tutti i pazienti ma una possibile arma in alcune categorie di persone particolarmente a rischio. Alcuni punti rimangono aperti e chiedono risposte agli studi scientifici in corso:

- L'identificazione più precisa dei pazienti a rischio che potrebbero realmente beneficiare di questo trattamento per ottimizzarne l'efficacia, i costi e la disponibilità delle dosi.
- La modalità di somministrazione ri-

chiede un ambiente ospedaliero in quanto tali farmaci ad oggi debbono essere somministrati mediante un'infusione endovenosa della durata di 1 ora seguita da un'altra ora di osservazione. Inoltre, i pazienti devono essere trattati entro pochi giorni dal tampone positivo, periodo nel quale sono molto infettivi. In questo contesto, la possibilità di avere trattamenti utilizzabili con altre vie somministrazione (ad esempio l'intramuscolo) potrebbero essere di enorme utilità.

- L'eventuale impatto sull'insorgenza di mutazioni virali indotte dalla pressione selettiva degli anticorpi va monitorato attentamente. Dati solidi su questo aspetto sarebbero di enorme utilità, ma ad oggi non ci sono. In uno studio in cui è stato sequenziato il virus presente nei pazienti prima e dopo la terapia con bamlanivimab da solo o in combinazione con etesevimab (9), è stata osservata la comparsa di mutazioni nella proteina S nel 7.1% dei pazienti (nel caso della monoterapia) e nell'1% dei pazienti (nel caso della combinazione dei due farmaci) che potrebbero giocare un ruolo nello sfuggire all'efficacia del trattamento stesso. Per ridurre il rischio di varianti virali resistenti si possono ipotizzare terapie combinate.
- I costi di produzione e distribuzione di anticorpi monoclonali sono molto elevati e, se ne venisse confermata l'efficacia in particolare popolazioni ad elevato rischio, l'intero pianeta avrebbe bisogno di milioni di dosi con costi enormi.

Diverse armi per combattere il COVID-19: Vaccino, anticorpi monoclonali o terapie combinate

La battaglia contro il COVID-19 è complessa e sta impegnando ricercatori e medici in tutto il pianeta. Diverse sono le strategie terapeutiche attualmente in studio: alcune sono dirette contro il virus (antivirali), altre tendono a spegnere l'eccesso di infiammazione (steroidi, monoclonali anti-citochine), altre ancora sono volte a potenziare la risposta immunitaria dell'ospite (vaccinazione e anticorpi neutralizzanti). Queste ultime (la strategia vaccinale e quella terapeutica con utilizzo di anticorpi monoclonali) sono diverse tra loro, ma concorrono allo stesso fine, quello di avere anticorpi neutralizzanti in grado di impedire l'infezione delle cellule bersaglio (nel caso della vaccinazione profilattica) o quella di limitare la replicazione virale e ridurre la severità della malattia (nel caso dei trattamenti terapeutici). Hanno però delle caratteristiche diverse (Vedi figura alla pagina precedente). La vaccinazione è un approccio di immunizzazione attiva che rende l'individuo vaccinato in grado di produrre anticorpi e linfociti T contro l'anti-

gene vaccinale; quest'immunità si manterrà nel tempo e sarà in grado di proteggerlo per una finestra temporale che può durare anche per anni. Al contrario, gli anticorpi monoclonali rappresentano una strategia di immunizzazione passiva in cui il farmaco biologico (anticorpi neutralizzanti) viene fornito dall'esterno mediante somministrazione endovenosa e potrà agire per un tempo limitato che dipenderà dalla sua emivita in circolo.

La vaccinazione rappresenta certamente la strategia di riferimento ma, in alcuni pazienti che presentano particolari condizioni immunosoppressive (ad esempio pazienti in corso di terapie con anticorpi anti-CD20), essa potrebbe risultare non efficace ad indurre una risposta immunitaria robusta. In questi pazienti, la possibilità di avere un'arma di immunizzazione passiva potrebbe realmente essere di estrema utilità. Infine, si possono ipotizzare terapie biologiche combinate tra anticorpi neutralizzanti e antiinfiammatori che potrebbero agire in maniera sinergica combattendo da una parte il virus e dall'altra la tempesta citochinica che ha un grosso impatto sulla gravità della malattia. C'è ancora tanto da capire in questa malattia. Solo la ricerca scientifica potrà fornirci i dati necessari per valutare, strada facendo, la miglior rotta da tenere.

Bibliografia essenziale

1. Rwei-Min Lu, Yu-Chyi Hwang, I-Ju Liu et al., Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases *Journal of Biomedical Science* 2020;27(1)
2. B. Kelley, Developing therapeutic monoclonal antibodies at pandemic pace. *Nature biotechnology*, 540 (2020).
3. A. C. Walls, Y. J. Park, M. A. Tortorici, A. et al., Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell* 2020;181:281-292
4. Q. Wang, Y. Zhang, L. Wu, et al., Structural and Functional Basis of SARS-CoV-2 Entry by Using Human ACE2. *Cell* 2020;549
5. X. Zou, K. Chen, J. Zou, et al., Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor 554 ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV 555 infection. *Frontiers of medicine* 2020;14(2):185-192.
6. M. Z. Tay, C. M. Poh, L. Renia, P. et al., The trinity of COVID-19: immunity; inflammation and intervention. *Nature reviews. Immunology*, 2020;20:363-374
7. D. Wrapp, N. Wang, K. S. Corbett, et al., ryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science (New York, N.Y.)* 2020;367:1260-1263
8. Chen P, Nirula A, Heller B et al. SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody LY-CoV555 in Outpatients with Covid-19. *N Engl J Med* 2021;384:229-237
9. Gottlieb RL, Nirula A, Chen P, et al. Effect of bamlanivimab as monotherapy or in combination with etesevimab on viral load in patients with mild to moderate COVID-19: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2021;25(7):632-644
10. Weinreich DM, Sivapalasingam S, Norton T et al., REGN-COV2, a Neutralizing Antibody Cocktail, in Outpatients with Covid-19. *N Engl J Med* 2021; 384:238-251