



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA – UNICEUB
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE – FACES
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ALINE SILVA DA COSTA

APLICAÇÃO DOS ANTICORPOS MONOCLONAIS NA BIOTECNOLOGIA

Trabalho de conclusão de curso em formato de artigo elaborado como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina, sob a orientação do prof. Dr. Paulo Roberto Queiroz.

Brasília
2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço minha família e meus amigos por todo o carinho, amor e força. Sou grata, especialmente, ao meu esposo Éder e minhas filhas Emily e Lívia que nunca deixaram que desistisse. Não posso deixar de agradecer minha sogra Neuza por todo apoio oferecido a nós, sem a senhora nada seria possível.

A minha mãe Veridiane (*in memoriam*), que em algum lugar deve estar vibrando com a minha vitória.

Sou grata a todos os professores que contribuíram com a minha trajetória acadêmica especialmente ao professor Paulo, responsável pela orientação deste projeto. Obrigada por esclarecer tantas dúvidas e ser tão atencioso e paciente.

Obrigada!

EPÍGRAFE

“O Sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

Aplicação dos anticorpos monoclonais na biotecnologia

Aline Silva da Costa¹
Paulo Roberto Queiroz²

RESUMO

Os anticorpos são moléculas glicoproteínas plasmáticas relacionadas com a imunidade adaptativa. Com a tecnologia de hibridomas desenvolvida em 1975 por Köhler e Milstein ocorreu a descoberta de produção de anticorpos monoclonais, moléculas quimicamente idênticas com alta especificidade podendo ser aplicados na produção de fármacos. O primeiro anticorpo monoclonal por ser murino causou alta imunogenicidade fazendo com que nas últimas décadas fossem desenvolvidos tecnologias para produção de anticorpos menos imunogênicos. Desta forma o objetivo deste trabalho foi descrever o potencial de uso dos anticorpos monoclonais nas aplicações biotecnológicas. Trata-se de um estudo de revisão narrativa realizada nas bases bibliográficas eletrônicas, Bireme, PubMed e Scielo. Conclui-se que por ser altamente específico se torna um excelente reagente imunobiológico, e com a diminuição da imunogenicidade através da produção de anticorpos monoclonais quiméricos, humanizados e humanos pelas técnicas biotecnológicas se tornam ótimos biofármacos por possuírem afinidade, alta especificidade e baixa toxicidade em comparação às drogas tradicionais.

Palavras-chave: Anticorpos monoclonais: Biotecnologia: Hibridoma.

Application of monoclonal antibodies in biotechnology

ABSTRACT

Antibodies are plasma glycoprotein molecules related to adaptive immunity. With the hybridoma technology developed in 1975 by Köhler and Milstein the discovery of the production of monoclonal antibodies, identical chemical molecules with high specificity can be applied in the production of drugs. The first murine monoclonal antibody caused high immunogenicity causing technologies to produce less immunogenic antibodies in the last decades. In this way the objective of this work was to describe the potential use of monoclonal antibodies in biotechnological applications. It is a study of narrative revision carried out in the electronic bibliographic databases, Bireme, PubMed and Scielo. It is concluded that because it is highly specific it becomes an excellent immunobiological reagent, and with the reduction of immunogenicity through the production of chimeric, humanized and human monoclonal antibodies by biotechnological techniques become excellent biopharmaceuticals because they possess affinity, high specificity and low toxicity in comparison to traditional drugs.

Keywords: Biotechnology: Hybridoma: Monoclonal antibodies.

¹ Acadêmica de Biomedicina do UniCEUB

² Professor do UniCEUB

1. INTRODUÇÃO

O sistema imune é composto por um conjunto de células e moléculas que cooperam na proteção contra agentes infecciosos e oferece um sistema de vigilância capaz de monitorar a integridade dos tecidos (DELVES,2013).

Conceitualmente divide-se a imunidade em inata e adaptativa. Imunidade inata tem como característica principal uma resposta rápida e inespecífica a um número grande de agentes. Ela é composta por barreiras físicas, químicas e biológicas, células especializadas e moléculas solúveis, presentes em todos os indivíduos, que independem do contato prévio com o imunógeno e não se alteram quantitativamente ou qualitativamente após o contato (CRUVINEL et al., 2010).

Em compensação, a resposta adaptativa depende do contato com o imunógeno para a ativação de células especializadas, os linfócitos, e das moléculas solúveis produzidas por elas. Suas principais características são: a especificidade e diversidade de reconhecimento, memória, especialização de respostas, autolimitação e tolerância a componentes do próprio organismo (CRUVINEL et al., 2010).

Ao entrar em contato com uma molécula estranha, o sistema imune adaptativo responde com a produção de anticorpos, como a molécula de IgG (imunoglobulina G) que é formada por duas cadeias polipeptídicas leves e duas pesadas em formato de Y, uma parte dessa molécula contendo domínios de natureza constante e as extremidades dos braços do Y correspondem a regiões variáveis responsáveis pela ligação ao epítipo do antígeno formando o complexo antígeno-anticorpo (MALAJOVICH, 2012; COELHO, 2014). Isso ocorre porque quando o sistema imune reconhece um imunógeno, ele entra em contato com todos os epítopos semelhantes presentes nesse antígeno, o que resulta na ativação de vários linfócitos B, produzindo assim vários anticorpos diferentes para cada epítipo presente no antígeno. Quando produzidos dessa forma, essas imunoglobulinas são denominadas de anticorpos policlonais (GOES; SILVA ; VALENTE-FERREIRA, 2017).

Os anticorpos são moléculas protéicas importantes para a resposta imune sendo um elemento estratégico de defesa. A utilização dos anticorpos como recurso terapêutico iniciou-se com a descoberta de que o soro animal imunizado com toxinas ou vírus possuía uma grande eficácia contra esses agentes que são causadores de doenças em humanos (COELHO, 2014).

Imunologistas observaram que pacientes com mieloma múltiplo (com proliferação de plasmócitos, células responsáveis pela produção de anticorpos) geralmente possuíam grandes quantidades de anticorpos quimicamente idênticos, produzidos pelo clone

neoplásico, no sangue e na urina, permitindo desta forma que estes fossem purificados homogeneizados e analisados (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2007).

Segundo Marques (2005), em 1975, a descoberta de Köhler e Milstein fazia referência à produção de anticorpos monoclonais, estes por terem afinidades específicas, poderiam ser utilizados na produção de fármacos ou serem direcionados a qualquer parte do organismo humano com o objetivo de atingir uma região ou tipo celular específico, o que permitiu que isso fosse possível foi a descoberta da técnica biotecnológica dos hibridomas, células geradas por meio da fusão de células linfocitárias com células de mieloma. Portanto, esses hibridomas tem características genéticas das duas células, podendo assim se reproduzirem continuamente e secretar anticorpos contra antígenos específicos.

Malajovich (2012) descreve que um dos desafios na utilização dos primeiros anticorpos monoclonais foi a reação imunogênica por serem obtidos de esplenócitos murinos, os quais geravam complexos imunes que lesionavam gravemente os rins. Para conseguir evitar essas reações foram desenvolvidos anticorpos monoclonais quiméricos (33% de proteína animal) e humanizados (10% de proteína animal). Esses possuem as porções que reconhecem o antígeno com proteína animal e o restante da molécula substituída com sequência humana.

Com o auxílio da biotecnologia, termo utilizado para definir qualquer aplicação tecnológica que se utiliza sistemas biológicos, organismos vivos ou seus derivados, para criação ou modificação de produtos e processos para utilização específica, conseguiu-se criar alternativas para produção de novos anticorpos monoclonais totalmente humanos (FERRO, 2010). O isolamento de genes codificantes de várias regiões humanas e a utilização da tecnologia de DNA recombinante possibilitou-se a obtenção de um anticorpo monoclonal totalmente humano da classe IgG (MARQUES, 2005).

Esses anticorpos podem ser utilizados em vários testes laboratoriais, como por exemplo, o método de Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA), um ensaio imunoenzimático desenvolvido em uma placa sensibilizada com um antígeno ou um anticorpo monoclonal específico para detecção de uma determinada molécula (GOES; SILVA ; VALENTE-FERREIRA, 2017).

Além do uso diagnóstico, os anticorpos monoclonais representam a classe de novos fármacos mais promissora em desenvolvimento contra o câncer e doenças autoimunes na atualidade. Alguns fármacos já estão disponíveis no mercado e muitos ainda em fase de ensaios clínicos (RODRIGUES et al., 2012). Utilizá-los como terapia alvo possui grande interesse em pesquisas para doenças que necessitam de tratamento clínico ou cirúrgico

agressivos já que possuem uma alta especificidade e poucos efeitos colaterais (SANTOS et al., 2006).

Sendo assim o objetivo deste trabalho foi descrever o potencial de uso dos anticorpos monoclonais nas aplicações biotecnológicas.

2. METODOLOGIA

Esse trabalho foi desenvolvido em forma de revisão narrativa da literatura. Conforme apontado por Rother (2007) bem como por Ferenhof e Fernandes (2016) esse tipo de revisão é considerada tradicional ou exploratória e ampla, onde não se tem uma grande preocupação em se esgotar as fontes de informação; sendo assim, apropriada para discutir e descrever sobre o desenvolvimento de um determinado assunto. É constituída de análise da literatura em livros e artigos publicados em revistas e sites da internet. Esse modelo de artigo tem um importante papel na divulgação da informação, já que permite ao leitor adquirir e atualizar seus conhecimentos a respeito de uma temática específica em curto intervalo de tempo.

A pesquisa foi realizada entre os anos de 2008 e 2018 foi dada prioridade por artigos publicados nos últimos dez anos, não se excluindo artigos anteriores a esse período desde que fossem importantes para fundamentação do tema pesquisado. Foram pesquisados artigos em bases bibliográficas eletrônicas como Bireme, PubMed e Scielo, com auxílio das seguintes palavras chave: “anticorpos monoclonais”, “biotecnologia”, “imunomodulador”, “hibridoma” tanto em português quanto em inglês.

3 – DESENVOLVIMENTO

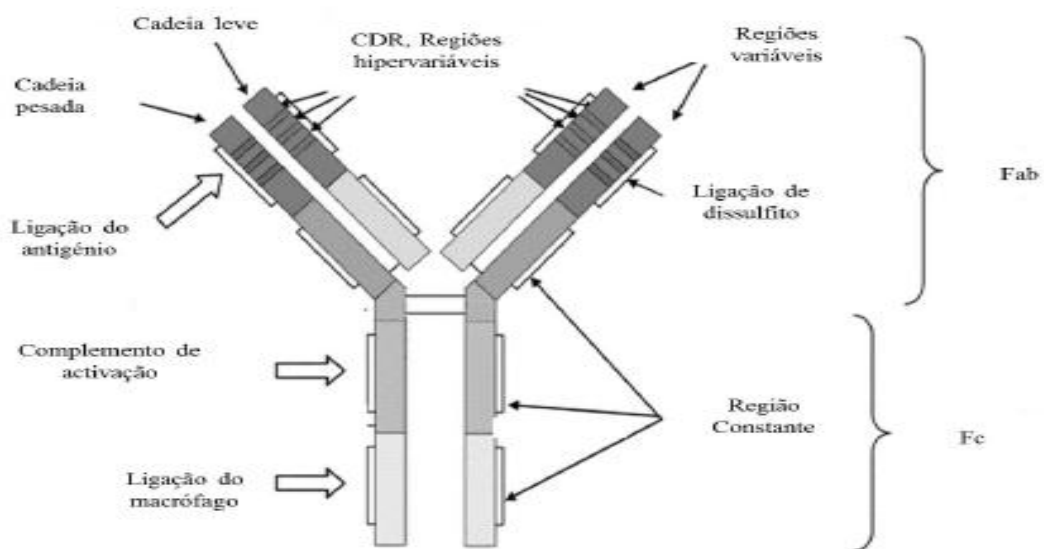
3.1 - Aspectos Gerais dos Anticorpos

Anticorpos são glicoproteínas circulantes produzidas em respostas à exposição a substâncias estranhas, estas possuem estruturas moleculares em sua superfície denominadas epítomos. Os anticorpos são moléculas diversas e específicas pela notável habilidade em detectar, localizar e reconhecer estruturas moleculares estranhas e constituem os mediadores da resposta humoral contra todas as classes de microrganismos (MARQUES, 2005). São sintetizados apenas pelas células de linhagem linfocitárias B em duas formas: imunoglobulinas ligados a membrana dos linfócitos B que funcionam como receptores de antígenos e anticorpos que neutralizam as toxinas, previne a entrada e

disseminação dos patógenos e eliminam microrganismos (ABBAS; LICHTMAN ; PILLAI, 2005).

De maneira simples os anticorpos possuem sua estrutura em forma de “Y” como demonstrado na figura 1, que é formada por quatro cadeias polipeptídicas, sendo duas pesadas C_H (*heavy chain*) e duas leves C_L (*light chain*). São unidas por meio de combinação de ligações não-covalentes (pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas e de Van der Waals e ligações iônicas) e covalentes (dissulfeto) (MARQUES, 2005). Consiste em três unidades, destas duas metades são idênticas que possuem o mesmo sítio de ligação ao antígeno e formam o segmento Fab (fragmento de ligação ao antígeno) da molécula e são regiões sequenciais extremamente variáveis. E uma terceira unidade o segmento Fc (fragmento cristalizável) que possui função na ligação às moléculas efetoras (DELVES et al., 2013). Como contém dois sítios de ligação ao antígeno são considerados bivalentes, o que confere a habilidade de se entrecruzar formando uma grande rede, já que um antígeno tem três ou mais determinantes antigênicos, o que permite aos macrófagos fagocitar e degradar facilmente. A distância entre os dois sítios de ligação pode variar conforme a flexibilidade da região da dobradiça existentes nas IgA e IgG, que é uma região estendida de cadeia polipeptídica dos anticorpos o que aumenta a eficiência dessa ligação com antígeno e permite a ligação cruzada (ALBERTS et al., 2010).

Figura 1 - Estrutura de um anticorpo com duas cadeas pesada e duas cadeias leves; Fc - região constante responsável pela ligação nas células efetoras; Fab – região variável responsável pela ligação ao antígeno.



Fonte: Carnall, 2014.

Conforme descrito por Alberts et al. (2010) os anticorpos não tem seu efeito protetor determinado apenas pela sua habilidade de se ligar aos antígenos, a porção caudal da molécula também é responsável por mediar outras atividades e cada tipo dessa região confere ao anticorpo propriedades funcionais diferentes, como ativação do sistema do complemento, promoção da ligação com células fagocitárias ou atravessar a placenta da mãe para o feto. Há cinco classes de anticorpos, IgA, IgD, IgE, IgG e IgM que possuem sua própria classe de cadeia pesada de anticorpos com atividades biológicas diferentes - α , δ , ϵ , γ e μ , respectivamente. Alguns anticorpos como IgA e IgG possuem subclasses. As diferentes conformações desde a região da dobradiça até a cauda dos anticorpos faz com que cada classe e subclasse tenham características próprias.

O principal anticorpo presente no sangue é a molécula de IgG, correspondendo cerca de 70 a 75% do total (MARQUES, 2005). É o anticorpo melhor definido em termos de estrutura e função e possui quatro subclasses (DELVES, 2013).

3.2 - Anticorpos Monoclonais e Hibridomas

Os primeiros estudos envolvendo o conhecimento a respeito da função e estrutura de anticorpos foram realizados com imunoglobulinas purificadas do soro de indivíduos imunizados contra vários antígenos, o que tornava a metodologia de baixa precisão já que o soro utilizado para o estudo continha uma mistura de imunoglobulinas produzidas a partir de vários linfócitos B, conhecidos como anticorpos policlonais (PRAMPERO, 2017).

Com isso, Georges köhler e Cesar Milstein em 1975 revolucionaram com o desenvolvimento da técnica de hibridização, quando utilizaram células B normais produtoras de anticorpos previamente imunizados fundidas com células de mieloma, conseguiram unir as características genéticas das duas células formando os hibridomas (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2007). Esses hibridomas são células capazes de se reproduzir continuamente e de também secretar anticorpos contra o antígeno previamente aplicado na imunização, anticorpos esses denominados como anticorpos monoclonais que são gerados a partir de um único clone (MARQUES, 2005).

Prampero (2017) relata que a produção dos anticorpos monoclonais possui duas vertentes: *in vivo* e *in vitro*. A produção *in vivo* baseia-se em provocar ascite em modelo animal, iniciando na sensibilização dos animais com injeções por via intraperitoneal de reagentes estimulantes de reação inflamatória e posteriormente inoculação dos hibridomas de interesse, também por via intraperitoneal. Os hibridomas produzem e secretam os anticorpos nesse líquido causado pela inflamação que é retirado através de drenagem. O

rendimento desse fluido é baixo o que torna necessário obter um *pool* de fluidos com a maior quantidade de animais possíveis e apesar de ser um método de baixo custo e de fácil execução, mesmo que em baixa escala, tem como limitações a necessidade de aprovação do comitê de ética animal e a necessidade de eutanásia dos animais dificultando assim o estabelecimento do processo produtivo.

A produção *in vitro* soluciona os problemas de produção encontrados na metodologia *in vivo* (PRAMPERO, 2017). A produção de anticorpos por cultura contínua de hibridomas oferece como vantagem uma fonte inesgotável de imunoglobulinas com altos títulos, alta reprodutibilidade e evita o aparecimento de reações cruzadas (BECK, 2005).

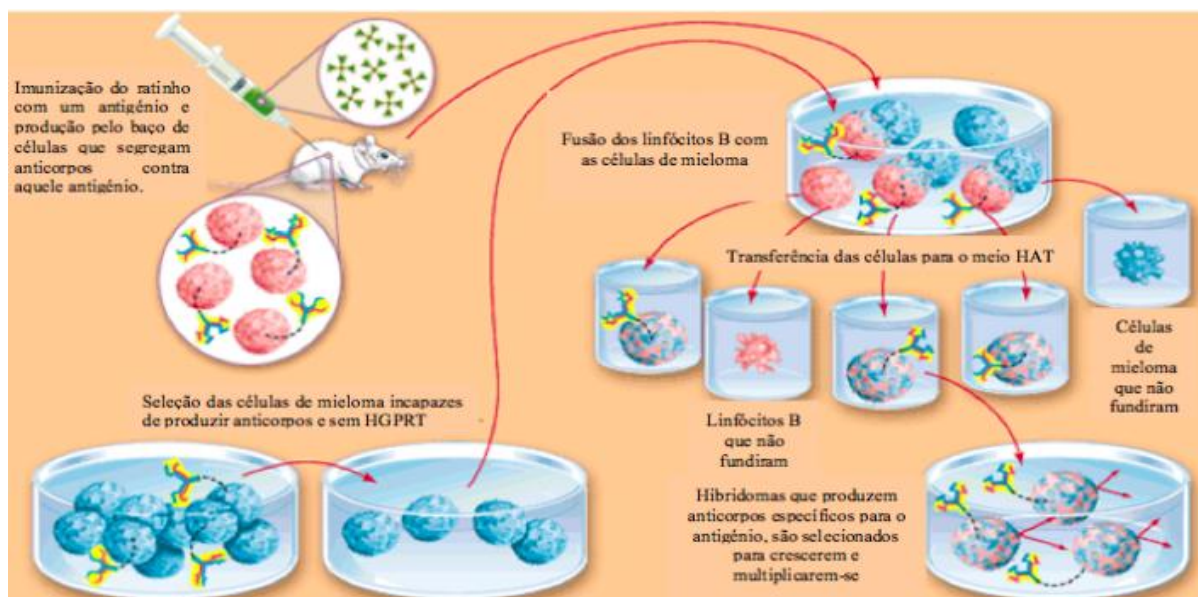
3.2.1 - Produção dos Hibridomas

O hibridoma é obtido por meio da fusão de um linfócito B, retirados do baço de ratos de laboratório e que são previamente imunizados com o antígeno alvo, com uma célula de mieloma (COELHO, 2014).

Na figura 2 podemos observar a produção dos hibridomas, que inicialmente ocorre após a imunização do camundongo com o antígeno de interesse, em seguida as células esplênicas imunizadas são incubadas com células de mieloma negativas para a enzima hipoxantina guanina fosforribosil-transferase (HGPRT) na presença de polietilenoglicol (PEG) diluído com meio nutritivo para cultivo de células e contendo dimetilsulfóxido (DMSO) que facilita a fusão das membranas (PRAMPERO, 2017). Após a fusão, essas células são transferida para o meio de cultura HAT (hipoxantina, aminopterina e timidina) onde somente as células híbridas sobrevivem. Isso ocorre em razão das células de mieloma serem expostas a aminopterina, que são impossibilitadas de fazerem a produção de purinas endógenas ficando dependentes da enzima HGPRT, que não possuem, ocasionando a morte dessas células. Já os esplenócitos não sobrevivem em meio de cultura por mais de duas semanas (GOES; SILVA.; VALENTE-FERREIRA, 2017)

O passo seguinte consiste em detectar, quantificar e caracterizar os anticorpos produzidos para realizar a clonagem e preservação das células secretoras de anticorpos específicos, ou seja, os hibridomas (COELHO, 2014).

Figura 2 - Produção de anticorpos monoclonais pela técnica de hibridoma.



Fonte: Coelho, 2014.

Legenda: Imunização de um camundongo com antígeno alvo para seleção dos esplenócitos; Seleção das células de mieloma incapazes de produzirem anticorpos e com ausência da enzima HGPRT; Fusão das células B com células de mieloma em meio contendo PEG e DMSO; Transferência para o meio HAT; Seleção das células híbridas para crescerem e multiplicarem-se.

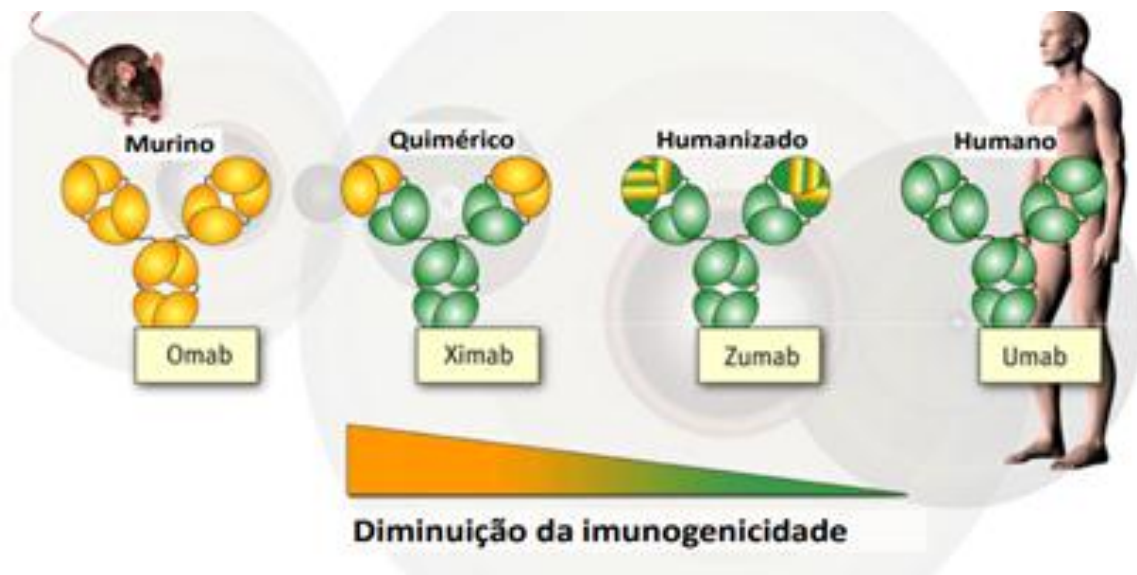
3.3 - Técnicas de Produção dos Anticorpos Monoclonais

Embora a técnica de produção de anticorpos monoclonais tenha sido descrita em 1975, seu uso clínico, diagnóstico e terapêutico passou a ser utilizado após associação com a engenharia genética (SANTOS, 2006). Isso deve-se ao fato de que os anticorpos monoclonais murinos (camundongos) são “vistos” pelo sistema imune dos seres humanos como um componente estranho e podem produzir o HAMA (*Human Antimouse Antibodies*), que geram rápida eliminação e podem formar complexos imunes que lesionam gravemente os rins (MALAJOVICH, 2011).

Com o auxílio da engenharia genética por volta da década de 80 foram desenvolvidas técnicas para manipulação dos destes anticorpos que possibilitaram a obtenção de forma que pudessem diminuir a imunogenicidade surgindo os anticorpos quiméricos, humanizados e totalmente humanos (CORRÊA, 2013).

Na figura 3 é demonstrada a evolução dos anticorpos monoclonais de uso terapêutico conforme a origem do material genético que compõe a proteína, correlacionando com seu potencial imunogênico.

Figura 3 - Evolução dos anticorpos monoclonais e seu potencial imunogênico.



Legenda: Correlação da carga genética dos anticorpos com seu potencial imunogênico, onde ocorre diminuição desse potencial ao diminuir a porcentagem de proteína animal na Ig. Fonte: Moraes, 2013.

A retirada das porções estranhas do anticorpo monoclonal e sua substituição por estruturas de Ig humanas pela tecnologia de DNA recombinante, permite a construção de um anticorpo monoclonal quimérico. Nessa molécula, os domínios V_H e V_L do camundongo são clivadas em genes C_H e C_L humanos, isso as tornam menos imunogênicas em seres humanos. Outra maneira considerada como uma abordagem mais refinada e que traz uma maior diminuição na imunogenicidade é o enxerto das seis regiões determinantes de complementariedade (CDR - *complementary determining regions*) de um anticorpo monoclonal murino de alta afinidade em uma estrutura Ig totalmente humana sem ter a perda da sua reatividade específica, essa molécula é denominada anticorpo monoclonal “humanizado” (DELVES, 2013).

3.3.1 - Anticorpos Monoclonais Totalmente Humanos

O desenvolvimento de ratos transgênicos (*xenomouse*) é uma técnica na qual é feita a introdução de genes de imunoglobulina humana no genoma desses ratos que em seguida

são imunizados com o antígeno específico que irá estimular a produção de anticorpos monoclonais humanos. Os anticorpos produzidos serão posteriormente isolados e clonados a partir dos linfócitos B do rato (COELHO, 2014).

Com o auxílio da engenharia genética ocorreu a tentativa de produzir anticorpos totalmente humanos utilizando-se linhagens de células B imortalizadas transformadas pelo vírus *Epstein-Barr*. Essa técnica se mostrou falha já que as essas células são instáveis, com baixa secreção de anticorpos e perdiam a capacidade de produzir o anticorpo específico após alguns períodos de cultivo (ALIPRANDINI, 2015).

Com isso, surgiu o desenvolvimento de produzir as glicoproteínas através de uma biblioteca de expressão de fagos (COELHO, 2014). Fagos são estruturas virais constituídas por uma molécula de ácido nucléico, que pode ser composta por DNA ou RNA, envolvida por um capsídeo. Para se replicarem precisam infectar uma célula com sítios receptores específicos (MARQUES, 2005).

O *Phage display* trouxe uma estratégia inovadora para obtenção dos anticorpos monoclonais humanos funcionais. Baseada na geração de biblioteca de sequências a partir de amplificação das regiões variáveis dos anticorpos de linfócitos B humanos ou de hibridomas que são clonadas em vetores específicos, como por exemplo, em vírus de *Epstein-barr*. Esses vetores podem expressar as regiões variáveis na forma de fragmentos scFv ou Fab fusionados à proteína de um bacteriófago de *Escherichia coli* (ALIPRANDINI, 2015).

A técnica utiliza a expressão e a seleção de bacteriófagos, onde o mRNA de células B humanas *primed* (sensibilizadas) é convertido em cDNA (DNA complementar) e utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR, *polymerase chain reaction* em inglês) genes de anticorpos, ou seus fragmentos, são expandidos. Logo após esse processo são desenvolvidas construções únicas, que permitem combinações aleatórias de genes de cadeias pesadas e leves com genes que codificam uma proteína do capsídeo do bacteriófago de *Escherichia coli*. Essa coleção combinatória codifica uma enorme relação de anticorpos (DELVES, 2013). As sequências podem ser triadas de acordo com a interação do fragmento expresso com o antígeno de interesse através do processo de *panning*, onde os bacteriófagos gerados são incubados em placas de ELISA (ALIPRANDINI, 2015).

Na figura 4 observa-se o processo de obtenção da biblioteca de expressão de fagos através da obtenção das células B de doadores humanos não humanizados identificados de acordo com a ligação ao antígeno e separados individualmente, a amplificação de genes V_H e V_L que em seguida são recombinados (MARQUES, 2005). Após transfecção com esses

vetores, as células eucarióticas produziram uma molécula de anticorpo inteiro com estruturas idênticas à humana (ALIPRANDINI, 2015).

Figura 4 - Biblioteca genômica de anticorpos em fagos.



Legenda: Amplificação das cadeias variáveis de células B de doadores humanos por PCR; Combinações dos genes para clonagem em vetores para produção da biblioteca por expressão em fagos.

Fonte: Marques, 2005.

Essa tecnologia gerou interesse na obtenção dos autoanticorpos com potencial terapêutico, como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e CD4. Esse fator não seria possível de ser obtido dos linfócitos que expressam esses autoanticorpos através da imunização, pois ocorreria um provável processo de tolerância. Dessa forma a recombinação aleatória das cadeias V_H e V_L pode gerar especificidades novas em condições *in vitro* que contornam esses mecanismos de tolerância (DELVES, 2013).

3.3.2 - Anticorpos Catalíticos

O desenvolvimento de um anticorpo monoclonal com atividade catalítica é uma estratégia com enorme potencial. Proposto primeiramente por Jencks (1969) sobre o preceito de Pauling (1946) em que as enzimas são catalisadores e atuam como uma molécula complementar ao complexo ativado da reação levando a uma diminuição da energia e que os anticorpos possuem grande eficiência em sua capacidade de ligação, porém o fazem em seu estado fundamental. Jencks ao elaborar esse conceito sugeriu que se os anticorpos pudessem ser induzidos a ligar-se ao estado de transição em teoria eles deveriam adquirir propriedades catalíticas (ALVES; SILVA; SILVA, 2017).

Macedo e Queiroz (2012) descrevem que os anticorpos possuem capacidade catalítica de forma intrínseca. Isso pode significar que qualquer reação química, para o qual um análogo do estado de transição possa ser sintetizado, irá apresentar um anticorpo com alguma atividade catalítica. A atividade catalítica deste anticorpo consiste no rompimento ou transformação do antígeno em partículas que o organismo possa eliminar facilmente.

Produzir anticorpos com pontos de ligação complementares aos estados de transição se torna complicado pelo fato de que estados de transição verdadeiros e a maioria dos intermediários de reação são instáveis não permitindo que sejam isolados e utilizados para imunização (MAHENDRA et al., 2013).

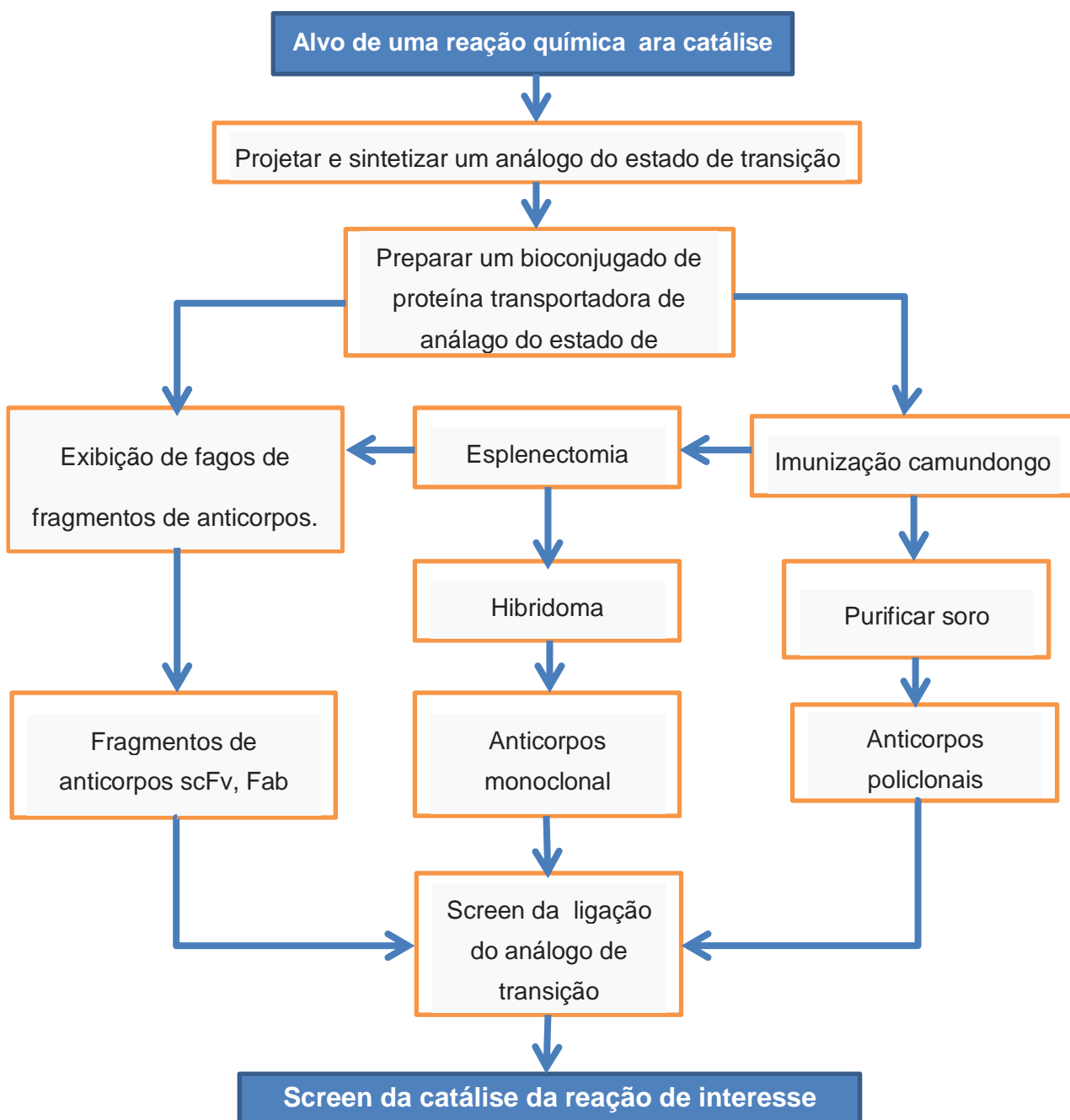
Conforme Macedo e Queiroz (2012) uma molécula de baixa massa molecular que possa atuar como um antígeno denominada hapteno foi explorada para a geração de sítios combinantes. Para adquirir essas moléculas foram desenvolvidos métodos computacionais, pois é fundamental que essas moléculas sejam quimicamente estáveis e ao mesmo tempo mimetizam as propriedades estruturais do estado de transição da reação catalisada.

Utilização de moléculas de análogo de transição, que são moléculas estáveis e se assemelham a um estado de transição para determinada reação de interesse faz com que os anticorpos induzidos também sejam complementares ao estado de transição ou intermediário levando assim à aceleração catalítica da reação (MAHENDRA et al., 2013). A produção de um anticorpo monoclonal podendo agir como enzima catalisando a reação, desperta grande interesse de novos estudos para possibilidade de gerar enzimas de forma programada, o que se torna uma estratégia promissora (DELVES, 2013).

Através da rede idiopática onde a imunização de um animal com um antígeno resulta na produção de um anticorpo de primeira linha (Ab1), em seguida a imunização com as regiões variáveis do Ab1 irá produzir anticorpos de segunda geração (AB2). Se o antígeno inicial for uma enzima alguns dos Ab2 irão apresentar uma imagem interna do sítio catalítico da enzima, logo possuindo atividade enzimática semelhante a enzima sendo assim denominados abenzimas (MAHENDRA et al., 2013).

Na figura 5 conseguimos analisar as etapas de produção de anticorpos catalíticos que se inicia através da escolha do antígeno alvo e na montagem dos haptenos, que são estruturas fundamentais na produção das abenzimas.

Figura 5 - Fluxograma de obtenção dos análogos de transição para produção de anticorpos catalíticos.



Fonte: Adaptado de Wentworth, 2002.

MAHENDRA et al. (2013) descrevem mais duas formas de obtenção de anticorpos catalíticos. A primeira seria a imunização de um camundongo com um antígeno acoplado a um análogo reativo covalente (CRA) de um inibidor de enzima, em seguida retirar o baço para a geração de hibridomas ou construção de biblioteca de fagos que expressam scFv. Na

segunda diz que a atividade catalítica pode ser conferida de novo a um anticorpo monoclonal não catalítico, pela introdução de uma tríade catalítica do tipo serina protease no paratopo do anticorpo.

3.3.3 - Anticorpos Conjugados/Marcados

Anticorpos conjugados possuem um papel importante no uso diagnóstico e terapêutico. Podendo ser usados como sondas altamente sensíveis para localização de um determinante antigênico em uma célula ou tecido. Ao serem acoplados a corantes fluorescentes conseguem combinar-se a antígenos específicos existente em um corte histológico e serem analisados por microscopia de imunofluorescência por exemplo (DELVES, 2013).

Além disso os anticorpos monoclonais pode ser modificados de forma que possam veicular radionuclídeos ou toxinas para células tumorais exercendo um efeito citotóxico e assim ampliando seu efeito terapêutico (RODRIGUES; OLIVEIRA, 2018). Desta forma, a utilização de um anticorpo monoclonal conjugado a um elemento radioativo permite a aplicação de uma dose alta de radiação que depositam doses letais seletivamente nas células tumorais enquanto as células normais não recebem nada ou pouca radiação (RODRIGUES et al., 2012).

A radioimunoterapia (RAIT) já é utilizada há mais de duas décadas no estudo de tumores. Constitui-se da administração sistêmica de um radioisótopo que possui emissão de partículas alfa ou beta, conjugado a um anticorpo dirigido contra antígenos tumorais (RODRIGUES et al., 2012).

Selecionar um radionuclídeo adequado para aplicação terapêutica inclui fatores como suas características físicas, local de deposição da energia, localização anatômica do tumor, custos envolvidos na produção e a disponibilidade do radionuclídeo. Na radioterapia de tumores sólidos são utilizados com maior frequência radionuclídeos emissores β (RODRIGUES; OLIVEIRA, 2018).

3.4 - Mecanismos de Ação dos Anticorpos Monoclonais

Coelho (2014) descreve que os anticorpos monoclonais podem atuar por vários mecanismos mediados tanto por sua porção variável como pela constante. Sendo que uma propriedade funcional de extrema importância são os mecanismos mediados pelos domínios variáveis, devido a sua ligação altamente específica aos epítopos do antígeno alvo.

Os anticorpos de modo geral possuem várias formas de contribuírem com a imunidade. Como a neutralização, opsonização, ativação do sistema complemento e a citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpo (ADCC), facilitação da fagocitose (GOES; SILVA ; VALENTE-FERREIRA, 2017).

Sendo que na neutralização os anticorpos recobrem sítios tóxicos do agente antigênico, com isso neutralizando-o. Já na opsonização os anticorpos recobrem a molécula estranha formando complexos antígeno-anticorpo, este complexo possui receptores que são reconhecidos por células fagocitárias. A ligação mediada por um anticorpo as células NK (*Natural Killer*) é denominada citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpo (ADCC). Nesse processo ocorre a interação entre anticorpos que recobrem o agente invasor e os receptores das NKs desencadeando a destruição citotóxica das células alvos por meio da liberação de grânulos citoplasmáticos contendo perforinas e granzimas (PRAMPERO, 2017).

Os anticorpos possuem meia vida média prolongada no soro, sendo uma propriedade muito importante para imunoterapia, já que a molécula se mantém por um longo período circulante nos fluidos corporais podendo interagir com seu alvo de forma mais efetiva (RODRIGUES et al., 2012).

3.5 - Aplicações dos Anticorpos Monoclonais

Os anticorpos monoclonais são muito úteis como reagentes imunobiológicos e podem ser usados para imunodiagnóstico, diagnóstico de tumores, identificação de marcadores fenotípicos únicos para tipos celulares em particular, análise funcional de moléculas de superfície celular e secretadas, cromatografia, dentre outros (BECK, 2005).

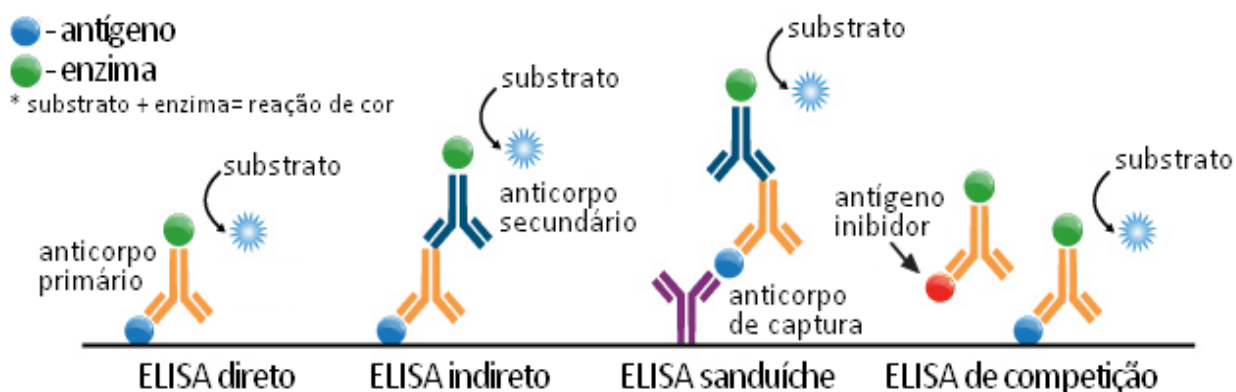
Um exemplo diagnóstico laboratorial mais utilizado é a metodologia ELISA, um método imunoenzimático capaz de capturar o antígeno ou anticorpo específico de uma doença. Desenvolvido em uma placa sensibilizada com antígenos ou anticorpos monoclonais específicos para detectar determinada infecção (GOES; SILVA ; VALENTE-FERREIRA, 2017). Anticorpos para determinado antígeno se encontram acoplados com enzimas que ao estarem na presença do substrato forma um produto colorido ou quimioluminescente que permite calcular a concentração de antígeno nas amostras ao serem comparados entre os diversos padrões de concentração conhecidas (MALAJOVICH, 2011).

Na figura 6 observa-se os diversos tipos de ELISA, dentre estes o que mais se destaca é o ELISA sanduíche ou ensaio de captura de antígeno. Nesta técnica um anticorpo

para um antígeno específico, anticorpo de captura, é aderido nas cavidades de uma placa de microtitulação. Em seguida a amostra contendo o antígeno é adicionada e se liga nesse anticorpo. Após a lavagem para remoção dos materiais não ligados outro anticorpo, que reconhece o antígeno, é adicionado. Um terceiro anticorpo acoplado a uma enzima é acrescentado e essa irá reagir com o substrato, gerando a coloração ou luminescência que permitirá a quantificação do antígeno presente (DELVES, 2013).

Essa técnica foi utilizada por Beck (2005) para testes da utilização de anticorpos monoclonais específicos para antígenos de rotavírus bovino e humano em amostras de fezes. Neste estudo de cinco anticorpos monoclonais, três se mostraram ótimos candidatos para uso diagnóstico de rotavírus no método de ELISA sanduíche.

Figura 6 - Esquema demonstrativo dos Métodos dos teste de ELISA.



Fonte: Câmara, 2013.

Outro método diagnóstico que pode ser aplicado o uso de anticorpos monoclonais é o de imunocromatografia utilizado em testes rápidos, como por exemplo teste rápido para malária. Sabe-se que um diagnóstico e tratamento precoces são fundamentais para prevenir a doença e mortes mais severas. O padrão ouro para malária é o diagnóstico por microscopia, que requer treinamento e em locais remotos microscópios nem sempre estão disponíveis. Sendo assim, a utilização de anticorpos monoclonais específicos são necessários para esses testes (LINH et al., 2017).

Um exemplo de anticorpo monoclonal utilizado como agente de imagem diagnóstica para detecção de câncer de próstata é o Capromabe Pendetida, um anticorpo monoclonal murino para um antígeno específico de membrana da próstata.

3.5.1 - Uso Terapêutico dos Anticorpos Monoclonais

Devido seu alto grau de especificidade os anticorpos monoclonais são aplicados em uso terapêutico como, por exemplo: doenças autoimunes, transplantes e com uma grande relevância no tratamento do câncer (CORDEIRO et al., 2014).

Em 1986 o anticorpo murino Orthoclone OKT3 (Muromonab CD3) foi aprovado pela FDA (Food and Drug Administration) para rejeição a transplantes. Esse foi o primeiro anticorpo a ser reconhecido e oficialmente aprovado para reverter os quadros de rejeição a transplantes a serem utilizados na clínica médica (MARQUES, 2005). No entanto a alta imunogenicidade não permitia a utilização prolongada pelo alto índice de produção de anticorpos contra os anticorpos murinos HAMA (human anti–mouse antibodies), e que puderam ser contornados com a ajuda da engenharia genética (CARNALL, 2014).

De acordo com Carnall (2014) a utilidade clínica do anticorpo depende de sua afinidade ao antígeno alvo. Com a melhora dessa afinidade a sua potência e farmacocinética também melhoram possibilitando baixar as doses terapêuticas que reduzem a imunogenicidade e toxicidade do fármaco.

Por se ligar especificamente aos antígenos tumorais de interesse poupando as células normais os anticorpos monoclonais conseguem ter menor toxicidade quando comparado às terapias tradicionais (GOES; SILVA ; VALENTE-FERREIRA, 2017).

No Brasil mais de cinquenta anticorpos monoclonais de uso terapêutico aprovados pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) atualmente já estão disponíveis e oferecidos na rede pública de saúde (Brasil, 2019). Alguns exemplos foram dispostos na tabela 1 de acordo com seu princípio ativo, tipo de anticorpo, antígeno alvo e sua indicação de uso terapêutico aprovados pela ANVISA e que constam na lista do CMED (Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos).

Tabela 1- Anticorpos monoclonais aplicados ao uso terapêutico.

ANTICORPO	TIPO DE ANTICORPO	ANTÍGENO ALVO	INDICAÇÃO
ABCIXIMABE	QUIMÉRICO	GP IIb/GP IIIa	COMPLICAÇÕES DE ANGIOPLASTIA CORONÁRIA
ADALIMUMABE	HUMANO (PHAGE DISPLAY)	RECEPTOR DE TNF	ARTRITE REUMATÓIDE

ALEMTUZUMABE	HUMANIZADO	CD52	ESCLEROSE MÚLTIPLA
BEVACIZUMABE	HUMANIZADO	INIBIÇÃO DO VEGFR	VGFR TUMOR SÓLIDO/CÂNCER COLORRETAL METASTÁTICO
CETUXIMABE	QUIMÉRICO	DOMINIO EXTRACELULAR DO EGFR	CANCER COLORRETAL EM METASTASE CABEÇA, PESCOÇO, CARCINOMA DE CÉLULAS DE PULMÃO
DENOSUMABE	HUMANO	RANKL	OSTEOPOROSE
INFLIXIMABE	QUIMÉRICO	TNF- α	DOENÇA DE CROHN, ARTRITE REUMÁTÓIDE
NIVOLUMABE	HUMANO	PD-1	MELANOMA AVANÇADO
OFATUMUMABE	HUMANO	CD20	LLC
OMALIZUMABE	HUMANIZADO	IgE	ASMA ALÉRGICA
PEMBROLIZUMABE	HUMANIZADO	PD-1	CÂNCER DE PULMÃO DE CÉLULAS NÃO PEQUENAS (CPCNP)
PANITUMABE	HUMANO	EGFR	CANCER COLORRETAL METASTÁTICO
PERTUZUMABE	HUMANIZADO	HER2	CÂNCER DE MAMA METASTÁTICO
RANIBIZUMABE	HUMANIZADO	VEGF-A	TRATAMENTOS DA DEGENERAÇÃO MACULAR NEOVASCULAR, DEFICIÊNCIA VISUAL DEVIDO AO EDEMA MACULAR DIABÉTICO
RAMUCIRUMABE	HUMANO	DOMÍNIO EXTRACELULAR DO VEGFR2	CÂNCER GÁSTRICO AVANÇADO OU ADENOCARCINOMA DA JUNÇÃO GASTROESOFÁGICA.
RITUXIMABE	QUIMÉRICO	CD20	LINFOMA NÃO-HODGKIN - LNH
SILTUXIMABE	QUIMÉRICO	IL-6	DOENÇA DE CASTLEMAN MULTICÊNTRICA (DCM) PACIENTES NEGATIVOS PARA HIV E HERPESVÍRUS HUMANO-8
TOCILIZUMABE	HUMANIZADO	IL-6	ARTRITE REUMATÓIDE E ARTRITE IDIOPÁTICA JUVENIL SISTÊMICA
TRASTUZUMAB	HUMANIZADO	HER2	CÂNCER DE MAMA METASTÁTICO SUPEREXPRESSION

			HER2
USTEQUINUMABE	HUMANO	SUBUNIDADE PROTEICA p40 DAS IL-12 E IL- 23	PSORÍASE EM PLACA, ARTRITE PSORIÁTICA

Fonte: Adaptado de Marques (2005); Carnall (2017); ANVISA (2019);

O tratamento com medicamentos biológicos é relativamente recente quando comparado com os produzidos por síntese química e os investimentos na produção de novos fármacos da categoria não param de crescer. No Brasil esses medicamentos têm sido responsáveis por um percentual elevado das compras do Ministério da Saúde, este cenário não ocorre apenas pela alta adoção desses fármacos como opção terapêutica de primeira linha, bem como pelo alto valor agregado a classe de medicamentos (VIDAL; FIGUEIREDO E PEPE, 2018).

Na tabela 2 pode-se verificar os tópicos descritos no trabalho suas características principais, bem como suas aplicações.

Tabela 2 – Principais características dos anticorpos monoclonais.

TÓPICO	CARACTERÍSTICAS	APLICAÇÕES
Anticorpos monoclonais	Glicoproteínas quimicamente idênticas reconhecem determinado epítipo	Imunodiagnósticos, medicamentos biológicos
	Anticorpos quiméricos porções variáveis murinas (33% de proteína animal)	
	Anticorpos humanizados CDR enxertados (10% de proteína animal)	
	Anticorpos totalmente humanos 100% proteína humana	
Anticorpos catalíticos	Moléculas capazes de atuar como enzimas	
Anticorpos marcados	Anticorpos monoclonais marcados com corantes imunofluorescentes ou radionuclídeo	Imunofenotipagem, citometria de fluxo, imunoensaios, radiofármacos.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento sobre o funcionamento do sistema imunológico proporcionou a utilização do mesmo. Desta forma, a idéia revolucionária proposta por Köhler e Milstein em

1975 de hibridizar células produtoras de anticorpos *in vitro* de forma contínua foi o início do desenvolvimento das técnicas biotecnológicas de produção de anticorpos monoclonais.

Nas últimas décadas, novas técnicas associadas a engenharia genética foram fundamentais para contornar alguns problemas relacionados a estrutura da molécula, onde os primeiros anticorpos monoclonais por serem obtidos de esplenócitos de camundongos ao serem utilizados na terapêutica ocasionava produção de anticorpos contra essas moléculas.

A tecnologia de DNA recombinante possibilitou a produção de anticorpos monoclonais quiméricos e humanizados. A fim de aumentar a afinidade ao antígeno e diminuir cada vez mais a imunogenicidade. Tecnologias como xenomouse e criação de bibliotecas genômicas conseguiram dar suporte para produção de moléculas inteiras ou porções de anticorpos totalmente humanos.

Outro componente promissor é o anticorpo catalítico obtido a partir de haptenos, moléculas estáveis análogas do estado de transição, que induzem os anticorpos a possuir a capacidade catalítica das enzimas. O anticorpo conjugado ou marcado diferentemente do anticorpo catalítico não é induzido a agir como agente catalítico, ele apenas está acoplado a um marcador. Esses podem ser utilizados em exames diagnósticos como imunoensaios e também são utilizados como radiofármacos.

Assim, conclui-se que a especificidade e os vários mecanismos de ação dos anticorpos monoclonais os tornam alvo de grande interesse em estudos e desenvolvimento de novas moléculas direcionadas para produção de novos exames diagnósticos capazes de detectar doenças de forma mais específica. Desenvolvimento de novos biofármacos com menor imunogenicidade através da aplicação das técnicas biotecnológicas para aquisição de moléculas mais próximas das humanas. Vários fármacos já estão disponíveis para uso terapêutico em vários âmbitos e demonstram uma alta afinidade, especificidade e baixa toxicidade em comparação às drogas tradicionais, porém com alto custo.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K. ; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Cellular and molecular immunology**. 5th – Philadelphia: Elsevier, 2005.

ABBAS, A. K. ; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Cellular and molecular immunology**. 6th – Philadelphia: Elsevier, 2007.

ALBERTS, B. et al. **Biologia molecular da célula**. 5º ed. - Porto Alegre : Artmed, 2010.

ALIPRANDINI, E. **Obtenção de anticorpos monoclonais humanos antitetânicos**. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia USP/Instituto

Butantan/IPT, para obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia. Área de concentração: Imunologia Aplicada, São paulo, 2015.

ALVES, C. N. ; SILVA, J. L. ; SILVA, J. R. A. Simulação computacional de reações enzimáticas e suas aplicações em biotecnologia, In: RESENDE, R.R. **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria - Vol. 4**. São Paulo: Blucher, 2017. p. 103 -136.

BECK, P. A. **Caracterização de anticorpos monoclonais contra rotavírus bovino e suas aplicações como ferramenta de diagnóstico**. 2005. 68f. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Imunologia, Salvador, 2005.

BRASIL. Lista de preços de medicamentos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)**. Brasil, 2019. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/374947/2829072/LISTA+CONFORMIDADE_2019-06-06.pdf/54213680-aae4-48f7-a307-86e02fef8bc9. Acesso em: 17 jun. 2019.

CÂMARA, B.; **ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)**. Biomedicina Padrão, 2013. Disponível em: <https://www.biomedicina.padrao.com.br/2010/05/elisa.html>. Acesso em: 13 jun. 2019.

CAMPOS, R. T. O. ; FURTADO, J. P. Narrativas: utilização na pesquisa qualitativa em saúde. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v..42, n.6, p.1090-1096, nov./dez. 2008.

CARNALL, M. S. **Produção de Anticorpos Monoclonais: Passado, Presente e Futuro**. 76f. Trabalho submetido para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Instituto Superior das Ciências da Saúde Egas Moniz, 2014.

COELHO, J. T. A. **Anticorpos Monoclonais**. 91 f. Dissertação (Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Porto 2014.

CORDEIRO, M. L. S. et al. Anticorpos monoclonais: Implicações Terapêuticas no Câncer. **Revista Saúde e Ciência**. v.3, n.3, p.252-262, set/dez, 2014.

CORRÊA, A. L. **Obtenção de anticorpos monoclonais anti-PBP2a de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina através do cultivo de células de hibridomas em frasco do tipo spinner**. 101 f. Dissertação apresentada ao Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Imunobiológicos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.

CRUVINEL, W. M. et al.; Sistema Imunitário – Parte I Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.50, n.4, p.434-461, 2010.

DELVES, P. J. et al.; **Roitt, Fundamentos de imunologia**. 12° ed. Rio de janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

FERRO, E. S. Biotecnologia translacional: hemopressina e outros peptídeos intracelulares. **Estudos Avançados**, vol.24, n.70, São Paulo, jan/feb 2010.

GOES, M. A.; SILVA, J. M.; VALENTE-FERREIRA, R. C. **Utilização dos anticorpos monoclonais no tratamento e no diagnóstico de doenças**. 2017. Disponível em: <http://www.toledo.br/repositorio/handle/7574/129>. Acesso em: 29 mar. 2019.

GUIMARÃES, M. C. C.; SILVA, I. V.; RANGEL, L. B. A. Anticorpos na terapia do câncer. **Perspectiva Online**, v. 5, n. 2, p. 96-100, 2008.

LINH, N. T. P. et al.; Development of Monoclonal Antibodies for Diagnosis of Plasmodium vivax. **Korean Journal of Parasitology**, v.55, n.6, p 623-630, dec. 2017.

MACEDO, L. M.; QUEIROZ, P. R. M. Anticorpos catalíticos e suas aplicações em biotecnologia, p.137–148. **Universitas Ciências da Saúde**, v. 10, p. 137-148, jul/dez, 2012.

MAHENDRA, A. et al.; Antibody-mediated catalysis: Induction and therapeutic relevance. **Autoimmunity Reviews**, v.12, n. 6, p. 648-652, abr. 2013.

MALAJOVICH, M. A. **Biotecnologia 2011**. Rio de Janeiro: Edições da Biblioteca Max Feffer do Instituto de Tecnologia ORT, 2012.

MARQUES, C. H. **Aspectos fundamentais à implantação da tecnologia de produção de anticorpos monoclonais humanizados com potencial aplicação terapêutica**. 2005. 109 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos) - Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2005.

MORAIS, A. Citotoxicidade mediada pelos anticorpos monoclonais terapêuticos. **V Curso de Verão Pesquisa em Oncologia**, 2013. Disponível em: http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/inca/Amanda_Morais_citotoxicidade_mediada_anticoorpos_monoclonais.pdf . Acesso em: 06 maio 2019.

NELSON, P. N. et al. Monoclonal antibodies. **Molecular Pathology**, v. 53, n. 3, p.111–117, jun. 2000.

NETO, C. R. S. et al. Biotecnologia para saúde humana: tecnologias, aplicações e inserção na indústria farmacêutica. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 29 , p. 359-392, mar. 2009. Disponível em: <https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/2641>. Acesso em: 18 jun. 2019.

PRAMPERO, A. C. **Produção de anticorpos monoclonais anti-GITR e anti-CD25 através de cultivo de hibridomas e comparação do seu potencial como agentes antitumorais**. 2017. 100 f. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Genética Evolutiva e Biologia Molecular para obtenção do título de Mestre em Genética Evolutiva e Biologia Molecular - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2017.

RODRIGUES, A. F. F. et al. Os anticorpos e seus fragmentos na imunoterapia contra o câncer. **Facider Revista Científica**, v.1, n1, p. 1-20, 2012.

RODRIGUES, C.; OLIVEIRA, M.C. Radioimunoterapia: uma abordagem terapêutica promissora no tratamento do carcinoma do ovário. **Saúde & Tecnologia**, n. 14, p. 26-35, 2015.

ROTHER, E. T. Revisão sistemática x revisão narrativa. **Acta Paulista de Enfermagem**, v.20, n. 2, p. 6-7, abr./jun. 2007.

SANTOS, R. V. et al. Aplicações terapêuticas dos anticorpos monoclonais. **Revista Brasileira Alergia Immunopatologia**, São Paulo, v.29, p.77-85, mar./abr. 2006.

WENTWORTH, P. Antibody Design by Man and Nature. **Science**, v.296, n.5576, p.2247-2249, 2002.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K. ; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Cellular and molecular immunology**. 5th – Philadelphia: Elsevier, 2005.

ABBAS, A. K. ; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Cellular and molecular immunology**. 6th – Philadelphia: Elsevier, 2007.

ALBERTS, B. et al. **Biologia molecular da célula**. 5º ed. - Porto Alegre : Artmed, 2010.

ALIPRANDINI, E. **Obtenção de anticorpos monoclonais humanos antitetânicos**. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia USP/Instituto Butantan/IPT, para obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia. Área de concentração: Imunologia Aplicada, São paulo, 2015.

ALVES, C. N. ; SILVA, J. L. ; SILVA, J. R. A. Simulação computacional de reações enzimáticas e suas aplicações em biotecnologia, In: RESENDE, R.R. **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria - Vol. 4**. São Paulo: Blucher, 2017. p. 103 -136.

BECK, P. A. **Caracterização de anticorpos monoclonais contra rotavírus bovino e suas aplicações como ferramenta de diagnóstico**. 2005. 68f. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Imunologia, Salvador, 2005.

BRASIL. Lista de preços de medicamentos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)**. Brasil, 2019. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/374947/2829072/LISTA+CONFORMIDADE_2019-06-06.pdf/54213680-aae4-48f7-a307-86e02fef8bc9. Acesso em: 17 jun. 2019.

CÂMARA, B.; **ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)**. Biomedicina Padrão, 2013. Disponível em: <https://www.biomedicina padrao.com.br/2010/05 /elisa. html> . Acesso em: 13 jun. 2019.

CAMPOS, R. T. O. ; FURTADO, J. P. Narrativas: utilização na pesquisa qualitativa em saúde. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v..42, n.6, p.1090-1096, nov./dez. 2008.

CARNALL, M. S. **Produção de Anticorpos Monoclonais: Passado, Presente e Futuro**. 76f. Trabalho submetido para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Instituto Superior das Ciências da Saúde Egas Moniz, 2014.

COELHO, J. T. A. **Anticorpos Monoclonais**. 91 f. Dissertação (Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Porto 2014.

CORDEIRO, M. L. S. et al. Anticorpos monoclonais: Implicações Terapêuticas no Câncer. **Revista Saúde e Ciência**. v.3, n.3, p.252-262, set/dez, 2014.

CORRÊA, A. L. **Obtenção de anticorpos monoclonais anti-PBP2a de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina através do cultivo de células de hibridomas em frasco do tipo spinner.** 101 f. Dissertação apresentada ao Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Imunobiológicos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.

CRUVINEL, W. M. et al.; Sistema Imunitário – Parte I Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.50, n.4, p.434-461, 2010.

DELVES, P. J. et al.; **Roitt, Fundamentos de imunologia.** 12º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

FERRO, E. S. Biotecnologia translacional: hemopressina e outros peptídeos intracelulares. **Estudos Avançados**, vol.24, n.70, São Paulo, jan/feb 2010.

GOES, M. A.; SILVA, J. M.; VALENTE-FERREIRA, R. C. **Utilização dos anticorpos monoclonais no tratamento e no diagnóstico de doenças.** 2017. Disponível em: <http://www.toledo.br/repositorio/handle/7574/129>. Acesso em: 29 mar. 2019.

GUIMARÃES, M. C. C.; SILVA, I. V.; RANGEL, L. B. A. Anticorpos na terapia do câncer. **Perspectiva Online**, v. 5, n. 2, p. 96-100, 2008.

LINH, N. T. P. et al.; Development of Monoclonal Antibodies for Diagnosis of Plasmodium vivax. **Korean Journal of Parasitology**, v.55, n.6, p 623-630, dec. 2017.

MACEDO, L. M.; QUEIROZ, P. R. M. Anticorpos catalíticos e suas aplicações em biotecnologia, p.137–148. **Universitas Ciências da Saúde**, v. 10, p. 137-148, jul/dez, 2012.

MAHENDRA, A. et al.; Antibody-mediated catalysis: Induction and therapeutic relevance. **Autoimmunity Reviews**, v.12, n. 6, p. 648-652, abr. 2013.

MALAJOVICH, M. A. **Biotecnologia 2011.** Rio de Janeiro: Edições da Biblioteca Max Feffer do Instituto de Tecnologia ORT, 2012.

MARQUES, C. H. **Aspectos fundamentais à implantação da tecnologia de produção de anticorpos monoclonais humanizados com potencial aplicação terapêutica.** 2005. 109 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos) - Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2005.

MORAIS, A. Citotoxicidade mediada pelos anticorpos monoclonais terapêuticos. **V Curso de Verão Pesquisa em Oncologia**, 2013. Disponível em: http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/Amanda_Morais_citotoxicidade_mediada_anticorpos_monoclonais.pdf . Acesso em: 06 maio 2019.

NELSON, P. N. et al. Monoclonal antibodies. **Molecular Pathology**, v. 53, n. 3, p.111–117, jun. 2000.

NETO, C. R. S. et al. Biotecnologia para saúde humana: tecnologias, aplicações e inserção na indústria farmacêutica. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 29 , p. 359-392, mar. 2009. Disponível em: <https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/2641>. Acesso em: 18 jun. 2019.

PRAMPERO, A. C. **Produção de anticorpos monoclonais anti-GITR e anti-CD25 através de cultivo de hibridomas e comparação do seu potencial como agentes antitumorais.** 2017. 100 f. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Genética Evolutiva e Biologia Molecular para obtenção do título de Mestre em Genética Evolutiva e Biologia Molecular - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2017.

RODRIGUES, A. F. F. et al. Os anticorpos e seus fragmentos na imunoterapia contra o câncer. **Facider Revista Científica**, v.1, n1, p. 1-20, 2012.

RODRIGUES, C.; OLIVEIRA, M.C. Radioimunoterapia: uma abordagem terapêutica promissora no tratamento do carcinoma do ovário. *Saúde & Tecnologia*, n. 14, p. 26-35, 2015.

ROTHER, E. T. Revisão sistemática x revisão narrativa. **Acta Paulista de Enfermagem**, v.20, n. 2, p. 6-7, abr./jun. 2007.

SANTOS, R. V. et al. Aplicações terapêuticas dos anticorpos monoclonais. **Revista Brasileira Alergia Immunopatologia**, São Paulo, v.29, p.77-85, mar./abr. 2006.

WENTWORTH, P. Antibody Design by Man and Nature. **Science**, v.296, n.5576, p.2247-2249, 2002.