

# Neutralização cruzada de sars-cov-2 por anticorpo monoclonal humano: qual o impacto desse estudo pioneiro no enfrentamento da COVID-19?

Soraya Castro Trindade  
Patrícia Mares Miranda  
Antonio Pedro Fróes de Farias  
Giselle Rocha Pinto  
Rebeca Pereira Bulhosa Santos  
Ellen Karla Nobre dos Santos Lima

## Introdução

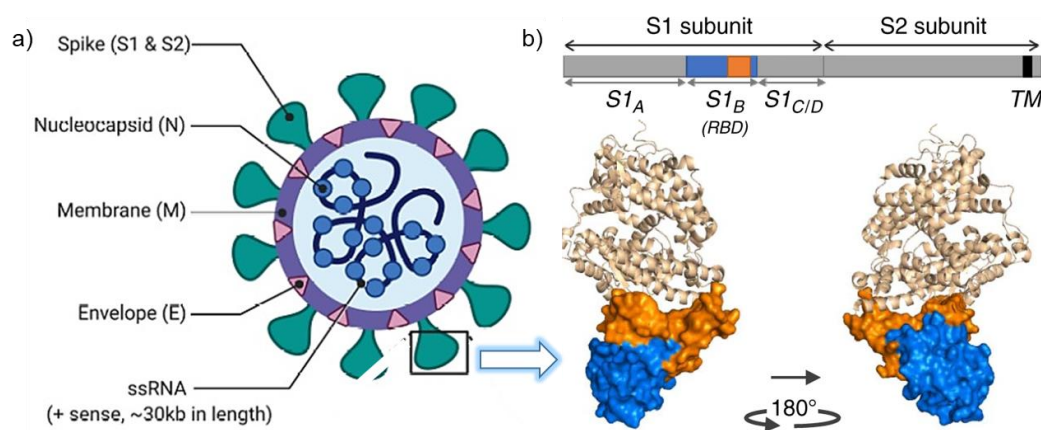
Diante da atual pandemia da infecção por SARS-CoV-2 (OMS, 2020) e da incerteza dos mecanismos moleculares envolvidos na patogênese da COVID-19, especialmente sobre o impacto das respostas imunes individuais na gravidade das infecções pelo vírus, abrem-se várias frentes de investigação sobre a temática no mundo. A urgência na necessidade de informações revolucionou a dinâmica dos laboratórios de pesquisa, que passaram a aproveitar a sua experiência nas tecnologias disponíveis, no manejo de micro-organismos diversos e no conhecimento das respostas do hospedeiro para o estudo da doença.

No artigo aqui analisado, Wang *et al.* (2020) apresentam um anticorpo monoclonal que neutraliza SARS-CoV-2 (e SARS-CoV) em cultura de células e alegam que anticorpos neutralizantes podem alterar o curso da infecção no hospedeiro infectado, apoiando a eliminação do vírus ou protegendo um indivíduo quando exposto ao mesmo. Portanto, esse anticorpo ofereceria o potencial de prevenir e/ou tratar a COVID-19 e, possivelmente, outras doenças emergentes causadas por vírus do gênero *Betacoronavírus*.

## Entendendo SARS-CoV-2 no contexto da imunologia

O coronavírus é um vírus de RNA fita positiva envelopado que utiliza glicoproteínas ricas em cisteína presentes no envelope viral no reconhecimento das células hospedeiras. As glicoproteínas denominadas *Spike* são compostas por duas subunidades (S1 e S2) (Figura 1). A subunidade S1, existente nos quatro domínios principais S1<sub>A</sub> a S1<sub>D</sub>, é responsável pela ligação do vírus ao receptor da célula hospedeira através do seu domínio de ligação ao receptor (RBD), enquanto a subunidade S2 é responsável pela fusão do vírus à membrana da célula infectada (CASCELLA *et al.*, 2020).

**Figura 1** – Estrutura viral do coronavírus SARS-CoV-2



**Fonte:** Adaptado de Cascella *et al.* (2020); Wang *et al.* (2020). a) Estrutura do SARS-CoV-2; b) Subunidades S1 (com domínios <sub>A-D</sub>) e S2 da proteína *Spike*.

Os dados de Wang *et al.* (2020) mostraram que o anticorpo monoclonal 47D11 neutraliza SARS-CoV e SARS-CoV-2 pela ligação do anticorpo à subunidade S1<sub>B</sub> através de um mecanismo ainda desconhecido, em uma região diferente da ligação do vírus ao seu receptor nas células hospedeiras, a enzima conversora da angiotensina 2 (ECA2).

O reconhecimento de moléculas virais leva à ativação de várias vias de sinalização e fatores de transcrição, que estimulam a expressão de genes que codificam moléculas essenciais para respostas inflamatórias, como o fator de necrose tumoral (TNF), a interleucina 1 (IL-1), as quimiocinas CCL2 e CXCL8 e os interferons do tipo I (IFN- $\alpha$  e IFN- $\beta$ ), que são fundamentais para respostas imunes antivirais inatas e são capazes de suprimir a replicação e disseminação viral em estágio inicial (DENG *et al.*, 2019).

Na imunidade específica, as células T CD4<sup>+</sup> secretam IFN- $\gamma$ , TNF e IL-2, enquanto as células T CD8<sup>+</sup> secretam IFN- $\gamma$  e TNF em estados mais graves da infecção. A resposta imune humoral por sua vez, especialmente através da produção de anticorpos neutralizantes, desempenha um papel protetor, limitando a infecção em uma fase posterior e impedindo a reinfecção no futuro (GORSE *et al.*, 2020).

## Entendendo o método empregado

Os anticorpos monoclonais (mAb) são proteínas multivalentes com alta afinidade e seletividade para epítomos antigênicos específicos (SATHORNSUMETEE; RICH, 2012). A sua produção em laboratório se dá pela fusão de células produtoras de anticorpos, como células do baço de um camundongo imunizado, com células de mieloma humano, gerando células híbridas chamadas de hibridoma (JIN *et al.*, 2017).

Os mAb têm sido amplamente utilizados no estudo de uma variedade de micro-organismos, incluindo os vírus, em razão das sequências e estruturas bem estabelecidas e conservadas (SAPHIRE *et al.*, 2018). Nessa perspectiva, anticorpos monoclonais foram desenvolvidos para atuar como neutralizantes do coronavírus e têm como alvo principal as glicoproteínas *Spyke* na superfície do envelope viral, que determinam a entrada nas células hospedeiras (REGUERA *et al.*, 2012). Assim, esses anticorpos neutralizantes reconhecem epítomos desse vírus podendo proporcionar uma proteção à COVID-19.

## Aplicações práticas do anticorpo monoclonal

Reconhecendo a importância da identificação de um anticorpo monoclonal capaz de bloquear a infecção por SARS-CoV-2, algumas considerações quanto aos avanços e limitações dessa descoberta (Quadro 1) devem ser discutidas.

**Quadro 1** – Pontos positivos e negativos da utilização do novo anticorpo monoclonal

Pontos positivos	Pontos negativos
1. Potencial desenvolvimento de vacinas;	1. Atuação limitada no tratamento;
2. Potencial desenvolvimento de testes diagnósticos sensíveis e relativamente baratos;	2. Não possui mecanismo de ação/neutralização elucidado;
3. Utilização em infecções futuras por SARS-CoV mutantes ou outras espécies de <i>Betacoronavirus</i> ;	3. Reatividade cruzada com outros CoV (liga-se a região conservada);
4. Anticorpo monoclonal totalmente humano.	4. Avaliação apenas <i>in vitro</i> .

Fonte: Próprio autor.

Os anticorpos antivirais atuam, principalmente, como moléculas neutralizantes, visto que, uma vez dentro da célula, os vírus ficam inacessíveis à ação direta dos anticorpos. A neutralização de vírus envelopados (como os coronavírus) ocorre pelo bloqueio da ligação do vírus ao seu receptor na célula hospedeira, impedindo a sua entrada. Os anticorpos podem, ainda, se ligar ao receptor celular, induzir alterações conformacionais neste receptor e inativar, irreversivelmente, as proteínas virais que medeiam a entrada (BURTON, 2019). Percebe-se, portanto, a potencial utilização do anticorpo 47D11 para prevenir a infecção por SARS-CoV-2, especialmente para o desenvolvimento de vacinas.

A sua efetividade para o tratamento de infecções instaladas, no entanto, é questionada, já que o vírus se encontraria alojado no interior da célula. Nesta direção, há estudos destacando o uso de plasma contendo anticorpos neutralizantes para tratar indivíduos com a forma grave da COVID-19 e resultados preliminares mostram melhora clínica (SHEN *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2020), indicando que esses anticorpos poderiam impedir a propagação do vírus para outras células.

Os autores relatam que o anticorpo 47D11 utiliza um mecanismo independente da inibição da ligação ao receptor ECA2, mas não elucidam qual o mecanismo de ação. Acredita-se que tenha como alvo a estrutura central conservada do domínio de ligação ao receptor S1<sub>B</sub>, o que implica em reatividade cruzada a SARS-CoV e SARS-CoV-2, mas permite supor que terá bom desempenho com relação ao potencial de mutação do vírus, e ainda poderá ser útil em outras doenças futuras causadas por vírus do subgênero *Sarbecovirus*.

Destaca-se que o anticorpo monoclonal em questão, a princípio quimérico, foi recombinado para imunoglobulina totalmente humana, evitando a imunogenicidade observada nos anticorpos de roedores (WALDMANN, 2019). Entretanto, é necessário avaliar o resultado com parcimônia, levando-se em consideração que a capacidade neutralizante *in vitro* pode não mostrar correlação *in vivo*.

Por fim, este anticorpo também poderá ser útil para o desenvolvimento de testes de detecção de antígenos e ensaios sorológicos, permitindo testes com menor custo do que os atuais baseados em biologia molecular para identificar RNA viral, e com maior desempenho que os testes rápidos, oferecendo resultados mais confiáveis.

## Perspectivas

No atual cenário de conhecimento sobre a COVID-19, o uso de anticorpos reativos a SARS-CoV-2, ainda que por mecanismos de reação cruzada, pode ser um importante ponto de partida para a confecção de testes de imunodiagnóstico com valores mais expressivos de sensibilidade, especificidade e com baixo custo.

Como opção de tratamento para a doença, sabe-se que as imunoglobulinas não são capazes de atuar no ambiente intracelular (KLASSE, 2014; JIN *et al.*, 2017), porém podem induzir outros mecanismos, como a ativação da cascata do sistema complemento, que por sua vez pode recrutar células capazes de agir na infecção viral (YEWDELL; DEL VAL, 2004; KLASSE, 2014). Destaca-se que ainda não existem evidências robustas da eficácia de drogas testadas em humanos (GELERIS *et al.*, 2020), justificando os esforços na investigação de terapias imunológicas para abordagens terapêuticas futuras.

Além disso, embora a resposta humoral não seja o recurso de eleição do sistema imune para o combate à infecções virais (YEWDELL; DEL VAL, 2004), a soroneutralização é um mecanismo já amplamente conhecido e empregado nas estratégias vacinais (KLASSE, 2014). Assim, os achados do estudo também apontam para um caminho na prevenção da infecção por SARS-CoV-2, que até então só dispõe de medidas não farmacológicas, de alto custo econômico e social.

## Referências

BURTON, Dennis. R. *Antibody barriers to going viral*. J Exp Med., v. 216, n. 10, p. 2226-2228, 2019.

CASCELLA, Marco *et al.* *Features, evaluation and treatment coronavirus (COVID-19)*. 06 Apr. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/#article-52171.s8>. Acesso em: 9 de maio de 2020.

CHEN, Xuejiao; JUNZHANG Tian, GUANMING Li, GUOWEI Li. *Convalescent plasma as a potential therapy for COVID-19*. The Lancet, v. 20, n. 4, p. 398-400, 2020.

DENG, Xufang; VAN GEELLEN, Albert.; BUCKLEY, Alexandra. C. *et al* *Coronavirus endoribonuclease activity in porcine epidemic diarrhea virus suppresses type I and type III interferon responses*. J Virol, v. 93, n. 8, 2019.

GELERIS, Joshua *et al.* *Observational study of hydroxychloroquine in hospitalized patients with COVID-19*. The New England Journal of Medicine., May, 7, 2020.

GORSE, Geoffrey J.; DONOVAN Mary M.; PATEL, Gira B. *Antibodies to coronaviruses are higher in older compared with younger adults and binding antibodies are more sensitive than neutralizing antibodies in identifying coronavirus-associated illnesses*. J Med Virol., v. 92, n. 5, p. 512-517, 2020.

JIN, Yujia; LEI, Cheng *et al.* *Human monoclonal antibodies as candidate therapeutics against emerging viruses*. Front Med., v. 11, n. 4, p. 462-470, 2017.

KLASSE, Per Johan. *Neutralization of virus infectivity by antibodies: old problems in new perspectives*. Adv Biol, 2014.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). *Coronavirus disease (COVID-19) outbreak situation*. 09 May 2020. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>. Acesso em: 9 de maio de 2020.

REGUERA, Juan *et al.* *Structural bases of coronavirus attachment to host aminopeptidase n and its inhibition by neutralizing antibodies*. PLoS Pathog., v. 8, 2012.

SAPHIRE, Erica Ollmann *et al.* *Antibody-mediated protection against the Ebola virus*. Nat. Immunol., v. 19, p. 1169-1178, 2018.

SATHORNSUMETEE, Sith.; RICH, Jeremy N. *Monoclonal antibodies in the Manual of Clinical Neurology*. Science direct, 2012.

SHEN, Chenguang *et al.* *Treatment of 5 critically ill patients with COVID-19 with convalescent plasma*. JAMA, v. 323, n. 16, p. 1582-1589, 2020.

WALDMANN, Herman. *Human monoclonal antibodies: the benefits of humanization*. Methods Mol Biol, v. 1904, p. 1-10, 2019.

YEWDELL, Jonathan W.; DEL VAL, Margarita. *Immunodominance in TCD8+ responses to viruses: cell biology, cellular immunology, and mathematical models*. Immunity, v. 21, n. 2, p. 149-153, 2004.