



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

USO DE ANTICORPOS MONOCLONAIS EM ANIMAIS DE COMPANHIA

Solène Alice Marie Blanc

Coimbra, Julho de 2023



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

USO DE ANTICORPOS MONOCLONAIS EM ANIMAIS DE COMPANHIA

Coimbra, Julho de 2023

Solène Alice Marie Blanc

Aluna do Mestrado integrado em Medicina Veterinária

Constituição do Júri

Presidente do Júri: Professora Doutora

Anabela Maduro de Almeida Francisco

Arguente: Professor Doutor Mário Pedro

Gonçalves Cotovio

Orientador: Professor Doutor Hugo Corte-

Real Vilhena

Orientador Interno

Professor Doutor Hugo Vilhena

Orientador Externo

Professor Doutor Jean-Christophe Le

Gressus

(Clinique Vétérinaire Domitia)

Dissertação do Estágio Curricular do Ciclo de Estudos Conducente ao Grau de Mestre em Medicina
Veterinária da EUVG

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que cruzaram o meu caminho e contribuíram, de perto ou de longe, para o sucesso dos meus estudos e para o meu sonho de ser médica veterinária.

Agradeço ao Dr. Hugo Vilhena pelo seu acompanhamento ao longo da minha formação na EUVG, primeiro como professor e depois como orientador na elaboração desta dissertação.

Agradeço à EUVG por me ter acolhido como estudante de medicina veterinária, e um agradecimento especial à Cristina Figueiredo por ter aceitado analisar a minha candidatura e encaminhá-la para as pessoas responsáveis pelo recrutamento apesar do período de inscrição estar acabado. Vocês me permitiram realizar o meu sonho e me deram a oportunidade de estudar em Coimbra, uma cidade mágica. Como costume dizer, não sucesso nos concursos de admissão das escolas francesas é o meu melhor fracasso: nunca teria tido a fortuna de experimentar essa vida incrível e conhecer pessoas tão maravilhosas.

Um grande obrigado a todos os professores que tive durante o meu tempo na EUVG, que me permitiram adquirir tantas habilidades e conhecimentos.

Também quero agradecer a todos os locais de estágio que me acolheram, por compartilharem sua paixão, transmitirem conhecimento e me darem autonomia. Vocês me integraram perfeitamente nas equipas e me acompanharam nos meus primeiros passos como bebé veterinária. Um agradecimento especial à Clinique Vétérinaire des Charmilles por me ensinar tanto e cuidar tão bem de mim durante os dois meses que passei lá. Eu realmente apreciei trabalhar em um ambiente tão incrível. E à Clínica Veterinária Domitia pelos seis meses de estágio final, sou tão grata por ter tido a oportunidade de praticar tanto, especialmente em cirurgia, e por me integrar como um membro na clínica.

Agradeço imensamente a Françoise Berquier, que me apoiou durante esses três anos de preparação, que me fez gostar tanto de matemática e pelas palavras reconfortantes.

Agradeço aos meus amigos da “prépa”, pelo suporte durante estes três anos intensos.

Agradeço aos meus colegas de apartamento, minhas irmãs, passei os melhores momentos com vocês nessa “colocação do Lamaçal”, e vocês foram um apoio constante ao longo desses anos. Um enorme obrigada a todo o grupo “Típico” por tornar a vida em Coimbra tão intensa e ao mesmo tempo tão doce.

Também agradeço a Clémence, Joséphine, Hélène e Marie-Sophie, minhas amigas do ensino médio, que sempre estiveram presentes e sempre me incentivaram em minha jornada, apesar da distância.

Por fim, um agradecimento eterno aos meus pais, meu irmão Alexandre e minha família, que me apoiaram e tranquilizaram ao longo dessa jornada; é graças a vocês que pude realizar tudo isso, serei eternamente grata. Eu amo vocês.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	IV
LISTA DE ABREVIATURAS	VII
RESUMO	IX
ABSTRACT	X
1. INTRODUÇÃO	1
2. ANTICORPOS MONOCLONAIS	2
2.1. Definição e estrutura.....	2
2.2. Síntese in vivo e in vitro de anticorpos monoclonais.....	3
2.3. Características dos anticorpos monoclonais	4
3. APLICAÇÕES DOS ANTICORPOS MONOCLONAIS EM MEDICINA VETERINÁRIA	5
3.1. O lokivetmab (Cytoint®): aplicação clínica dos anticorpos monoclonais no tratamento de processos dermatológicos alérgicos.....	5
3.2. Anticorpos monoclonais no tratamento de processos inflamatórios - artrose	8
3.3. Anticorpos monoclonais em oncologia veterinária	10
3.3.1. Anticorpos monoclonais humanos nas terapias oncológicas veterinárias.....	11
3.3.2. Desenvolvimento de anticorpos monoclonais específicos de animais de companhia	13
3.4. Aplicação dos anticorpos monoclonais no diagnóstico e no tratamento de infeções víricas	13
3.4.1. Uso dos anticorpos monoclonais no diagnóstico da infeção por SARS-CoV 2	13
3.4.2. Anticorpos monoclonais no tratamento da infeção pelo parvovírus canino	14
4. PERSPECTIVAS FUTURAS E LIMITAÇÕES RELATIVAS À UTILIZAÇÃO DOS ANTICORPOS MONOCLONAIS NOS ANIMAIS DE COMPANHIA	14
4.1. Anticorpos monoclonais na redução do uso de antimicrobianos	14
4.2. Segurança e reações adversas dos anticorpos monoclonais.....	15
4.3. Dificuldades da implementação desde a investigação até a introdução no mercado	16
5. CONCLUSÃO	17
BIBLIOGRAFIA	18
ANEXO I	I

ÍNDICE DE FIGURAS

ANEXO I	I
Figura 1: Estrutura geral de um anticorpo de tipo imunoglobina G (Azam, 2018).....	II
Figura 2: Síntese de anticorpos monoclonais a partir da técnica dos hibridomas descrita por Köhler e Milstein (Blanc S, 2023)	III

LISTA DE ABREVIATURAS

ADCC: Citotoxicidade celular anticorpo-dependente (do inglês *antibody-dependent cell mediated cytotoxicity*)

AIM: Autorização de Introdução no Mercado

AINE: Anti-inflamatórios Não Esteroides

CADESI-03: Índice de extensão e severidade da dermatite atópica canina (do inglês *canine atopic dermatitis extent and severity index*)

CDC: Citotoxicidade complemento dependente (do inglês *complement dependent cytotoxicity*)

CDR: Região determinante da complementaridade (do inglês *complementary-determining regions*)

COVID-19: Doença de coronavírus 2019 (do inglês *coronavirus disease 2019*)

CPV-2: Parvovírus canino tipo 2 (do inglês *canine parvovirus type 2*)

DNA: Ácido desoxirribonucleico (do inglês *desoxyribonucleic acid*)

EGF: Fator de crescimento epidérmico (do inglês *epidermal growth factor*)

EGFR: Receptor do fator de crescimento epidérmico (do inglês *epidermal growth factor receptor*)

EMA: Agência europeia de medicamentos (do inglês *european medicines agency*)

Fc Region: Região do fragment cristalizável (do inglês *fragment crystallizable region*)

FDA: Administração Federal de Alimentos e Medicamentos (do inglês *Food and Drug Administration*)

HER-2: Receptores 2 do fator de crescimento epidermal humano 2 (do inglês *human epidermal growth factor receptor 2*)

IFN- γ : Interferão-gama (do inglês *interferon-gama*)

IL-31: Interleucina-31 (do inglês *interleukin-31*)

IRIS: *International Renal Interest Society*

KLH: Hemocianina do keyhole limpet (do inglês *Keyhole Limpet Hemocyanin*)

mAb-based bELISA: Ensaio imunoenzimático por ligação de enzima por bloqueio baseado em anticorpos monoclonais (do inglês *Monoclonal Antibody-Based Blocking Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

NGF: Fator de crescimento nervoso (do inglês *Nerve Growth Factor*)

NK: *Natural-Killer*

OHC: Ovário de hamster chinês

PD-1: Proteína de morte celular programada 1 (do inglês *programmed cell death protein 1*)

PD-L1: Ligante de morte programada 1 (do inglês *programmed death-ligand 1*)

RCP: Resumo das Características do Produto

SARS-CoV-2: Coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (do inglês *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*)

TDAR: Resposta de anticorpos dependentes de linfócitos T (do inglês *T-cell Dependent Antibody Response*)

TrKA: Recetor da tropomiosina cinase A (do inglês *Tropomyosin receptor kinase A*)

USDA: Departamento da Agricultura dos Estados- Unidos (do inglês *United States Department of Agriculture*)

RESUMO

A aplicação clínica dos anticorpos monoclonais tem sofrido uma expansão nos últimos anos, nomeadamente na área da oncologia, onde a sua utilização é tão importante como a cirurgia, os fármacos citotóxicos, e a radioterapia. Apesar do desenvolvimento de anticorpos monoclonais em medicina humana, os laboratórios são mais reticentes em investir no desenvolvimento de terapias com anticorpos monoclonais para animais de companhia. Atualmente, estão disponíveis no mercado veterinário europeu três anticorpos monoclonais que apresentam elevada eficácia e segurança. O primeiro é o lokivetmab (Cytoint®) que tem uma aplicação no prurido. Mais recentemente, dois anticorpos monoclonais com alvo na dor decorrente da artrose foram introduzidos: o bedinvetmab (Librela®) para os cães e o frunvetmab (Solensia®) para os gatos. Este documento tem como objetivo fazer uma revisão sobre anticorpos monoclonais em medicina veterinária, e das suas aplicações clínicas, nomeadamente das já existentes em medicina veterinária e dos fármacos em estudo. Esta análise também descreve o potencial das terapias por anticorpos monoclonais numa perspetiva *One Health* através da sua potencial contribuição para a redução da administração de antimicrobianos. Esta revisão também destaca a falta de estudos relativos à inocuidade e à dificuldade na investigação destas moléculas em medicina veterinária por motivos económicos, apesar do seu crescimento recente devido aos avanços nas técnicas de síntese, nomeadamente com a “PETisação” dos anticorpos monoclonais.

Palavras-chave: animais de companhia, anticorpos monoclonais, artrose, atopia, imunoterapia, oncologia, parvovirus

ABSTRACT

The clinical application of monoclonal antibodies has experienced an expansion in recent years, specifically in the field of oncology where they take centre stage alongside surgery, cytotoxics and radiotherapy. In spite of the development of monoclonal antibodies in human medicine, laboratories are being more reluctant to invest in those therapies for pets. Currently, three safe and efficient monoclonal antibodies are available on the European pharmaceutical market. The first one is lokivetmab (Cytoint®) and tends to manage pruritus. Lately, two monoclonal antibodies targeting pain due to osteoarthritis were authorized under the name of bedinvetmab (Librela®) for dogs and frunevetmab (Solensia®) for cats. This document aims to provide a literature review about monoclonal antibodies in veterinary medicine and clinical applications for pets, notably the ones that already are on the market and the drugs under study. This analysis also describes the potential of monoclonal antibody therapies that are part of the One Health concept by contributing to the reduction of antimicrobial use. This review either highlights the lack of studies on safety and the difficulty of investigating these molecules in veterinary medicine due to economic reasons related to owners and laboratories, despite the growing interest since the development of synthesis techniques, particularly with "PETisation" of monoclonal antibodies.

Key words: atopy, immunotherapy, monoclonal antibodies, oncology, osteoarthritis, parvovirus, pets

Uso de anticorpos monoclonais em animais de companhia

Solène Blanc^a, Hugo Vilhena^{b,c,d,e}

^a Departamento de Medicina Veterinária, Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário- Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (solene.blanc10@gmail.com)

^b Centro de Investigação Vasco da Gama (CIVG), Escola Universitária Vasco da Gama (EUVG), Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário- Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (hugo.vilhena@euvg.pt)

^c Onevetgroup Hospital Veterinário Universitário de Coimbra (HVUC), Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário- Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal

^d Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal

^e Laboratório Associado de Ciência Animal e Veterinária AL4AnimaLS, Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-UL); Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa, Portugal

1. INTRODUÇÃO

A aplicação clínica dos anticorpos monoclonais tem aumentado de forma muito significativa no mercado farmacêutico mundial. Em 2014, em França, representavam 17% dos biomedicamentos, ou seja, dos fármacos de origem biológica, e obtiveram um volume de negócios superior ao das vacinas, (Bernard, 2014). Os anticorpos monoclonais são imunoglobulinas derivadas de um único clone de células plasmáticas com a função de reconhecer especificamente uma região determinada do antigénio (epítopo) (Tizard, 2016).

A técnica de síntese de anticorpos monoclonais foi descrita pela primeira vez em 1975 por Köhler e Milstein, com o desenvolvimento de hibridomas (Lebranchu, 2018), que foram incluídos na imunoterapia passiva em medicina humana. A imunoterapia passiva consiste em inocular células ou moléculas imunitárias sintetizadas em laboratório (Tizard, 2016). Após alguns aperfeiçoamentos, a grande especificidade e a baixa toxicidade destas moléculas tornaram-nas fundamentais em medicina humana, nomeadamente na área de oncologia, onde são usadas no tratamento de diferentes tumores (Beirão et al., 2016).

Mais tarde, em 2017, foi desenvolvido o primeiro anticorpo monoclonal veterinário, o lokivetmab, comercializado sob o nome de Cytotpoint®, que foi implementado no mercado europeu para uso no tratamento da Dermatite Atópica Canina (European Medicines Agency, 2017). Embora o desenvolvimento de anticorpos monoclonais terapêuticos em medicina veterinária seja mais recente do que em medicina humana, estes apresentam-se também como muito promissores no tratamento de diferentes doenças. Todavia, no século passado, os anticorpos monoclonais já tinham sido explorados em medicina veterinária, no diagnóstico de doenças parasitárias como a hidatidose ovina por *Echinococcus granulosus* (Pastoret, 1982).

A terapia por anticorpos monoclonais encaixa-se no conceito de terapia personalizada devido à sua elevada especificidade, apresentam uma administração prática devido ao seu tempo de semi-vida relativamente longo e poderão ter interesse na área da Saúde Pública, nomeadamente no combate às resistências aos antibióticos pela potencial contribuição na redução do uso de antimicrobianos (Lacotte et al., 2019). No entanto, para que ocorra a expansão da sua aplicação clínica em medicina veterinária, os anticorpos monoclonais têm de ultrapassar vários desafios como a viabilidade comercial considerando o elevado custo de produção, uma vez que a sua especificidade não permite a utilização de moléculas desenvolvidas em medicina humana, tal como já foi provado com o rituximab, um anticorpo monoclonal usado no tratamento de linfoma em medicina humana, que não se liga aos linfócitos B caninos (Impellizeri et al., 2006). A eficácia e a segurança do tratamento são também fundamentais porque o uso destes fármacos não deve originar o desenvolvimento de reações adversas, nomeadamente por imunogenicidade (Lebranchu, 2018).

Este trabalho tem como objetivos fazer uma revisão dos estudos disponíveis sobre anticorpos monoclonais usados em animais de companhia e sobre as aplicações clínicas aprovadas pelas entidades competentes. Além de abordar as (potenciais) vantagens destes fármacos, é relevante perceber também as suas limitações, e as melhorias necessárias ao seu estudo, farmacologia e comercialização.

2. ANTICORPOS MONOCLONAIS

2.1. Definição e estrutura

Um anticorpo é uma glicoproteína plasmática, nomeadamente uma imunoglobulina, cujo peso molecular está compreendido entre 160 e 180 kDa, e que é sintetizada por plasmócitos em resposta à ligação com um antígeno (Tizard, 2016). Os antígenos são macromoléculas complexas externas (estranhas) ao organismo (Pastoret, 1982). Os anticorpos são constituídos por quatro cadeias peptídicas ligadas entre si por pontes dissulfetos intra e intercadeias; existem duas cadeias leves e duas cadeias pesadas compostas por regiões constantes e regiões variáveis (Diallo et al., 2019). Na componente variável do anticorpo encontram-se as regiões determinantes da complementaridade (CDR) que fazem a ligação entre o epítopo (determinante antigénico), que é a porção mais pequena capaz de se ligar ao anticorpo, e o paratopo que pertence à região variável do anticorpo. A figura 1 (ANEXO I) exemplifica a estrutura dos anticorpos. Os anticorpos com a mesma especificidade apresentam CDR iguais. Existem três CDR na parte variável de cada cadeia. Os antígenos são definidos como substâncias estranhas ao organismo, que se ligam a receptores específicos nos linfócitos, e assim desencadeiam uma resposta imunitária. A antigenicidade refere-se à capacidade de uma molécula ser reconhecida pelo sistema imunitário, enquanto a imunogenicidade é a capacidade que uma molécula tem de desencadear uma resposta imunitária. A região do fragmento cristalizável (Fc) do anticorpo, é característica de cada espécie, e por esse motivo, para usar um anticorpo monoclonal terapêutico, a fração Fc tem de corresponder à espécie alvo de forma a evitar reações por parte do sistema imunitário (Debaene, 2022). Esta região liga-se ao receptor Fc localizado na superfície das células ou liga-se a algumas proteínas do complemento; assim, faz a ligação entre a imunidade inata e a imunidade adaptativa. A imunidade inata é a imunidade já presente ao nascimento e que se implementa sem o organismo ter sido previamente exposto ao antígeno. Ao contrário, a imunidade adaptativa funciona por reconhecimento e adaptação de antígenos para os neutralizar (Tizard, 2016).

As funções desempenhadas pelos anticorpos são múltiplas: podem neutralizar o antígeno por ligação; têm capacidade de opsonização, ou seja, de revestir os microorganismos, o que permite a fagocitose por macrófagos ou neutrófilos; ativação do complemento por ligação ao antígeno; e têm propriedades de toxicidade celular designada de citotoxicidade celular anticorpo-dependente (ADCC) (Heitzmann, 2013).

Um anticorpo monoclonal é um anticorpo que provém da seleção de um único clone de plasmócitos que reconhecem com uma elevada especificidade um único epítipo num determinado antigénio, e que são sintetizados em resposta a esse antigénio (Tizard, 2016). Os mecanismos de ação dos anticorpos monoclonais resultam das funções que desempenham. Atuam diretamente por bloqueio ou mimetização de um ligante de um determinado recetor, atuam também por opsonização, ADCC e por citotoxicidade complemento dependente (CDC) (Heitzmann, 2013).

2.2. Síntese *in vivo* e *in vitro* de anticorpos monoclonais

A técnica de síntese de anticorpos monoclonais foi desenvolvida por Köhler e Milstein em 1975. Os anticorpos são produzidos por um organismo, de forma fisiológica, em resposta à exposição a um determinado antigénio. Não obstante, os anticorpos criados desta forma são policlonais, ou seja, são sintetizados por diversos plasmócitos e ligam-se a vários epítopos. Para que sejam originados por um mesmo clone plasmócitos, é necessário isolar um plasmócito e promover a sua proliferação *in vitro*, (Heitzmann, 2013).

O procedimento consiste em provocar a hiperimunização de um rato, inoculando um antigénio de interesse até 3 vezes para promover a síntese de imunoglobinas pelos plasmócitos. Depois, os plasmócitos de interesse são isolados a partir de células esplénicas e sofrem uma fusão com células de mielomas linfóides. Um mieloma é uma neoplasia dos plasmócitos em que as células B tumorais sintetizam um clone de células tumorais que sintetizam anticorpos (Tizard, 2016). Estes anticorpos produzidos são monoclonais e homogéneos porque provém de um precursor único ou clone e são produzidos em grande quantidade (Diallo et al., 2019). Para além disso, os mielomas têm uma proliferação infinita e a sua cultura *in vitro* é realizável. A célula que resulta da fusão entre o mieloma e o plasmócito de interesse é designada de hibridoma, e tem duas propriedades de interesse, apresenta uma multiplicação *in vitro* infinita e sintetiza anticorpos monoclonais (Heitzmann, 2013). Dentro do bioreator, vários hibridomas são sintetizados e derivam de diferentes clones. Estes clones são depois separados e a sua atividade é analisada para depois selecionar o clone de maior interesse. Este procedimento é ilustrado através da figura 2 (ANEXO I). Por exemplo, os dois anticorpos monoclonais bedinvetmab e frunevetmab provém da seleção do hibridoma α D11 que foi selecionado por produzir anticorpos monoclonais α D11 que se ligam ao fator de crescimento nervoso (NGF), e inibem a sua ligação às células alvo e a sua atividade biológica em cultura. Após este passo de seleção, em medicina veterinária é necessário assegurar que o anticorpo monoclonal obtido é capaz de se ligar ao antigénio alvo da espécie em questão. É também fundamental garantir que não desencadeia nenhuma reação imunitária após administração, ou seja, que não tem potencial de imunogenicidade. Este passo é designado de “PETisação” do anticorpo monoclonal, e corresponde à utilização de técnicas de acidodesoxirribonucleico (DNA) recombinante no paratopo do anticorpo para que não desencadeie nenhuma reação imunitária quando fixa o epítipo do antigénio. Depois, a sequência modificada é

acrescentada a uma sequência de DNA que codifica a Fc do anticorpo; assim, o anticorpo monoclonal obtido não será imunogénico (Debaene, 2022).

2.3. Características dos anticorpos monoclonais

Em 1982, poucos anos após a descoberta da técnica de síntese dos anticorpos monoclonais, Pastoret descreveu os anticorpos monoclonais como uma tecnologia potente pelas suas propriedades de especificidade e de produção em quantidade ilimitada *in vitro*. Nesta época, as únicas aplicações em medicina veterinária foram nos imunodiagnósticos e a principal limitação foi a falta de linhas de mielomas específicas. As perspetivas futuras eram, segundo Pastoret, a aplicação destes anticorpos no diagnóstico e na investigação (Pastoret, 1982).

Atualmente, a imunoterapia é considerada o quarto pilar da terapia contra o cancro após a cirurgia, a quimioterapia e a radioterapia. Os canídeos com tumores naturais representam um modelo que permite estudar o potencial clínico da imunoterapia como os anticorpos monoclonais e ajustá-las aos humanos (Dias et al., 2021). De facto, existem características genéticas similares em alguns cancros nos cães e nos humanos (Klingemann, 2021). Os animais de companhia poderão também ter um papel importante no desenvolvimento de anticorpos monoclonais como estímulo da inovação em oncologia, nomeadamente através de ensaios clínicos (Beirão et al., 2016). Assim, os resultados obtidos poderão ter benefícios para ambas as espécies (Dias et al., 2021).

Relativamente à farmacocinética dos anticorpos, é importante realçar que a administração dos anticorpos monoclonais só pode ser feita através de vias parenterais. De facto, sendo macromoléculas, não conseguem ultrapassar a barreira gastrointestinal e também arriscam degradação pelo pH ácido e pelas enzimas digestivas (Tizard, 2016). Para além disso, não têm uma via de eliminação clássica. A sua eliminação ocorre maioritariamente por endocitose específica ou é feita através da pinocitose. Como as imunoglobulinas são macromoléculas, não podem ser eliminadas por via renal pelo que apresentam, à partida, baixa toxicidade em animais com doença renal. São consideradas moléculas seguras e pouco tóxicas por esta razão. (Debaene, 2022).

A terapia por anticorpos monoclonais apresenta várias vantagens. Primeiro, o facto de ter uma semi-vida relativamente longa, o que permite uma administração menos frequente (Beirão et al., 2016). Isto pode tornar-se útil em medicina veterinária em casos em que a administração diária de tratamentos por via oral, por exemplo, pode ser difícil em animais não cooperantes. Para além disso, os anticorpos monoclonais apresentam baixa toxicidade devido a um mecanismo de ação preciso e alvos muito específicos. Assim, inserem-se no conceito de terapia personalizada, o que é uma outra vantagem significativa (Beirão et al., 2016). Na área da oncologia incluem-se na imunoterapia passiva; pois, não estimulam o sistema imunitário como na imunoterapia ativa. Assim, nas doenças oncológicas onde a resposta imunitária se encontra suprimida, anticorpos monoclonais podem apresentar vantagens em

relação às vacinas imunogénicas (Klingemann, 2021). Para além disso, a “caninização” e a “felinização” dos anticorpos monoclonais permite desenvolver moléculas com imunogenicidade quase nula. Por exemplo, foi desenvolvido um primeiro anticorpo monoclonal contra o parvovírus canino, o 10H4, com o objetivo de neutralização do parvovírus canino tipo 2 (CPV-2); no entanto o seu desenvolvimento foi abandonado porque originou reações de imunogenicidade por não ser “caninizado” mas de origem murina (Zhou et al., 2022). Os anticorpos monoclonais podem ser otimizados usando tecnologia de DNA recombinante para melhorar as suas propriedades (Marconato et al., 2015), por exemplo, para realizar a sua “PETisação”.

3. APLICAÇÕES DOS ANTICORPOS MONOCLONAIS EM MEDICINA VETERINÁRIA

3.1. O lokivetmab (Cytoint®): aplicação clínica dos anticorpos monoclonais no tratamento de processos dermatológicos alérgicos

A dermatite atópica canina (DAC) é uma doença genética que ocorre por combinação da exposição a antigénios ambientais e de distúrbios do sistema imunitário, nomeadamente da barreira epidérmica, e pode também estar associada a uma colonização bacteriana cutânea. É uma doença complexa e multifatorial cujo sinal clínico principal é o prurido devido à inflamação crónica (Hensel et al., 2015). A reação que ocorre na DAC é uma reação de hipersensibilidade de tipo I, mediada por imunoglobinas E. Em geral, a DAC é diagnosticada em animais jovens entre os 6 meses e os 3 anos de vida. A doença é caracterizada por apresentar prurido intenso, lesões cutâneas na região ventral do corpo, nas axilas, face, extremidades e ouvidos (Griffin & Deboer, 2001). O diagnóstico da DAC é baseado nos sinais clínicos, por exclusão dos diagnósticos diferenciais e por utilização da tabela dos critérios de Favrot (Hensel et al., 2015).

A interleucina-31 (IL-31) é uma citocina envolvida na fisiopatologia das doenças alérgicas cutâneas. As citocinas são proteínas solúveis que têm um papel de sinalização e assim permitem às células de atuar à distância sobre outras células para regular a sua atividade e a função. São sintetizadas em resposta a um sinal ativador o que as diferencia das hormonas (Tizard, 2016). A IL-31 é sintetizada pelos linfócitos T helper 2 ativados e o seu recetor é expresso nos queratinócitos e nos gânglios da raiz dorsal, ou seja, existem recetores para a IL-31 nos neurónios sensitivos, o que provoca prurido (Krautmann et al., 2023). Para além disso, é induzida nos monócitos pelo interferão-gama (IFN- γ). Os animais que sofrem de DAC têm uma concentração aumentada de ARNm que codifica para IL-31, e foi mostrado que esta concentração é maior na pele que contém lesões do que na pele íntegra. Na DAC, a presença do alérgeno e das bactérias que podem aparecer secundariamente estimula os linfócitos T, os queratinócitos e os neurónios que assim desencadeiam inflamação e prurido. Desta forma, podemos dizer que a IL-31 é uma proteína envolvida no prurido (Tizard, 2016).

Em 2017, o lokivetmab (Cytoint®) foi o primeiro anticorpo monoclonal de uso veterinário a ser aprovado e comercializado na Europa pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA). Este fármaco

foi desenvolvido para tratamento do prurido e dos sinais clínicos associados ao prurido em cães com DAC, uma vez que o prurido intenso associado à DAC pode originar infecções bacterianas cutâneas secundárias na pele lesada pelo autotraumatismo (European Medicines Agency, 2017).

O lokivetmab é um anticorpo monoclonal “caninizado” que atua por bloqueio do seu alvo, a IL-31, ligando-se ao seu recetor. Quando o lokivetmab se liga aos recetores da IL-31, impede a ligação da IL-31 e assim não ocorre a cascata que origina o prurido e a inflamação (European Medicines Agency, 2017). Tal como referido anteriormente, a IL-31 desempenha uma função importante na sensação de prurido porque se liga a recetores de neurónios sensitivos e assim atua como mediador do sinal de prurido, e para além disso tem a capacidade de aumentar a rede sensitiva cutânea por aumento da ramificação dos nervos. Adicionalmente, a IL-31 coordena a interação entre as células imunitárias e as células epiteliais, ou seja, facilita a resposta imunitária celular contra os agentes patogénicos (Bordessoules, 2023).

As suas via e frequência de administração são uma vantagem importante sendo que os estudos mostram que para ser eficaz necessita de uma administração mensal por via subcutânea (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2017). Estas características podem ser interessantes para os tutores que não conseguem administrar os fármacos por via oral, como, por exemplo, no caso do oclacitinib, comercializado sobre o nome Apoquel®, que é administrado por via oral, diariamente, no tratamento da DAC (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2013).

Assim, o lokivetmab é uma molécula cada vez mais usada em medicina veterinária, nomeadamente pela sua eficácia; o início de ação ocorre oito horas após administração, e os estudos mostraram que segundo o Índice de extensão e severidade da dermatite atópica canina (CADESI-03) provoca uma diminuição do prurido e também da gravidade da doença (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2017).

Em 2016, um ensaio duplo cego foi realizado para avaliar a eficácia e a segurança do lokivetmab (Cytopoint®). O ensaio incluiu 211 cães aos quais foi administrado uma única administração de lokivetmab ou de placebo no dia 0 do estudo, e foi avaliado o prurido pelos tutores e pelo clínico em diferentes momentos estabelecidos até o dia 56. Este ensaio mostrou que o lokivetmab administrado na dose de 2 mg/kg nos cães com DAC reduz o prurido a partir do primeiro dia de injeção, e que tem uma eficácia robusta e continua na maioria dos cães durante pelo menos um mês após a primeira dose recebida (Michels et al., 2016). Esta dose foi superior à dose recomendada pela EMA no Resumo das Características do Produto (RCP) do lokivetmab (Cytopoint®) (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2017). Para além disso, nenhum cão desenvolveu reações de imunogenicidade induzida pelo tratamento, e nenhuma reação de hipersensibilidade foi assinalada imediatamente após a administração, o que mostra o lokivetmab (Cytopoint®) como um produto seguro (Michels et al., 2016).

Mais recentemente (Krautmann et al., 2023), foi realizado um estudo com o objetivo de comprovar a segurança laboratorial do lokivetmab em cães de raça Beagle saudáveis, através de uma avaliação clínica, morfológica e funcional. A avaliação funcional foi realizada comparando a resposta imunitária dos cães tratados com Cytopoint® à de cães não tratados, usando o método da resposta de anticorpos dependentes de linfócitos T (TDAR), que é considerado o Gold Standard para avaliar o impacto de um fármaco na função imunitária e a sua imunotoxicidade. Assim, foi administrado o antigénio da hemocianina do keyhole limpet (KLH) aos dois grupos e foi medida a função do sistema imunitário em três provas. Os resultados mostraram que os cães tratados com lokivetmab não desenvolveram nenhuma reação, nem alterações morfológicas no estudo dos tecidos. Mostrou também que no grupo tratado com Cytopoint® a resposta do sistema imunitário frente ao KLH não foi alterada, e que não foram observadas reações de imunogenicidade, imunossupressão, nem reações de hipersensibilidade. Assim, este estudo, realizado após a autorização da utilização do medicamento no mercado confirmou os resultados obtidos nos estudos iniciais, que as reações adversas são raríssimas, que não ocorre deposição de imunocomplexos IL-31-lokivetamab, e que os efeitos adversos principais são semelhantes aos das vacinas, ou seja, reações de hipersensibilidade e a reação local no sítio de injeção.

Relativamente à segurança do lokivetmab, um estudo retrospectivo de 5 anos avaliou os efeitos secundários do tratamento da DAC. Mostrou que os efeitos indesejáveis ligados ao Cytopoint® são raros e que a incidência no período foi de 0,08%. No entanto, é necessário considerar que a informação relativa às reações adversas a longo prazo não é conhecida, uma vez que a sua introdução no mercado é recente. Como a ocorrência de reações adversas tem de ser reportada, a farmacovigilância desempenha uma função muito importante no desenvolvimento destas imunoterapias (Piquemal et al., 2022).

Em relação à administração, distribuição, metabolização e eliminação, o lokivetmab é muito seguro (Krautmann et al., 2023). Uma vez administrada, a solução injetável de Cytopoint® é incorporada no pool de anticorpos circulantes e apresenta um tempo de semi-vida de aproximadamente 16 dias. A eliminação do anticorpo monoclonal é similar à de uma proteína endógena, ou seja, sofre catabolismo (Krautmann et al., 2023). Assim, o lokivetmab não forma metabolitos tóxicos, não interage com outros fármacos, nem é metabolizado ou excretado pelas vias hepática ou renal e devido a isso pode ser administrado em animais com doenças nestes órgãos (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2013).

O custo do tratamento é uma das principais limitações da utilização clínica do lokivetmab.

Um estudo realizado em seis cães mostrou que inibir a IL-31 usando o lokivetmab não permite impedir a expressão de mediadores pró-inflamatórios nas fases agudas da DAC. Neste estudo, foram comparados os transcriptomas de animais tratados com lokivetmab e de animais não tratados com

lokivetmab expostos a alergénios ambientais. Nos animais tratados, foi evidenciado mesmo quando o prurido foi quase totalmente eliminado, existem citoquinas e quimioquinas associadas à DAC que são expressas durante as fases agudas da doença, o que explica o desenvolvimento de lesões cutâneas. Assim, o papel da IL-31 poderá ser considerado menos importante do que foi pensado. As moléculas expressas na fase aguda da DAC são as citoquinas IL-33, IL-13, IL-9 e a quimioquina CCL17 (Tamamoto-Mochizuki et al., 2023).

Este estudo poderá ser importante na investigação no âmbito de complementar o tratamento com lokivetmab usando novos alvos terapêuticos como as citoquinas IL-33, IL-13, IL-9 e a quimioquina CCL17, e também pode explicar a falta de eficácia do lokivetmab em alguns animais, ou a perda de eficácia em alguns casos onde se mostrou eficaz numa fase inicial. No entanto, é importante realçar que o estudo foi realizado em apenas seis cães, o que constitui um limite à significância dos resultados devido à amostra reduzida.

De referir ainda que não foram realizados estudos para avaliar a portencial formação de anticorpos anti-lokivetmab, o que também poderia contribuir para justificar a perda de eficácia que pode ocorrer ao longo do tratamento (Krautmann et al., 2023).

3.2. Anticorpos monoclonais no tratamento de processos inflamatórios - artrose

A artrose é uma doença degenerativa crónica que afeta a totalidade da articulação sinovial, (não apenas a cartilagem), e que resulta numa alteração na articulação e em dor crónica (Humbert, 2020). O diagnóstico da doença é realizado com base nos sinais clínicos, que são a dor e a claudicação, e com base nos exames ortopédico e neurológico. A artrose é uma doença que tem uma etiologia multifatorial, e pode ser primária ou secundária (Niel, 2015). A artrose primária é idiopática, no entanto, a artrose secundária é devida a alterações que modificam a homeostasia da articulação como a displasia do cotovelo ou a rotura do ligamento cruzado cranial (Fox & Millis, 2010).

Aproximadamente 20% dos cães apresentam artrose a partir de um ano de idade (Le Blaye, 2004). A artrose é uma doença sub-diagnosticada no gato e nos gatos geriátricos, em que a prevalência da artrose é de 50% até 90% (Lascelles, 2010). Os sinais clínicos são a dor e as modificações comportamentais como a diminuição da atividade física.

A fisiopatologia da doença consiste numa alteração do líquido sinovial, que se torna inflamatório (Humbert, 2020). Ocorrem também alterações na cápsula articular, como espessamento e infiltração de células inflamatórias (Voss et al., 2017). A sinóvia, as cartilagens, o osso subcondral, os músculos, tendões e ligamentos também sofrem alterações estruturais nesta doença degenerativa, tais como a proliferação óssea nas formas de entezófitos e osteófitos (Loeser et al., 2012). Atualmente, não existe nenhum tratamento curativo desta doença; os tratamentos atuais focam-se principalmente no controlo

da dor (Humbert, 2020) uma vez que não são conhecidas terapêuticas que permitam uma reparação das lesões irreversíveis provocadas pela artrose (Niel, 2015).

O bedinvetmab e o frunevetmab são dois anticorpos monoclonais que foram autorizados pela EMA no mercado europeu sob os nomes comerciais respetivos Librela® e Solensia® para reduzir a dor resultante da artrose. O bedinvetmab é um anticorpo monoclonal usado nos cães e o frunevetmab nos gatos. Ambos são obtidos pelas técnicas de DNA recombinante em células de ovário de hamster chinês (OHC) (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2020, 2021).

O alvo dos dois fármacos é o NGF, uma neurotrofina que é um fator de crescimento nervoso; é um complexo proteico de 130kDa. A função do NGF é a regulação da manutenção, do funcionamento e do desenvolvimento dos neurónios sensitivos e simpáticos (Debaene, 2022). O mecanismo de ação é por inibição do sinal celular mediado pelo NGF, o que provoca uma redução da dor provocada pela artrose (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2020, 2021). De facto, foi comprovado que na artrose o NGF é produzido em excesso nas articulações (Debaene, 2022). Quando o NGF se liga ao seu recetor específico, o da tropomiosina cinase A (TrKA) nos mastócitos, desencadeia uma cascata inflamatória com libertação de moléculas inflamatórias e induz a síntese de NGF por *feedback* positivo o que provoca inflamação e nociceção por ligação aos recetores nociceptivos, promovendo um ciclo vicioso (McKelvey et al., 2013). Para além disso, o NGF diminui o limiar de ativação dos neurónios nociceptivos (Debaene, 2022).

Os anticorpos monoclonais anti-NGF têm como objetivo neutralizar o NGF, e assim limitar o desencadeamento de reação inflamatória; o bedinvetmab (Librela®) e o frunevetmab (Solensia®) são anticorpos monoclonais respetivamente “caninizados” e “felinizados”; este procedimento de “PETisação” torna-os muito específicos (Debaene, 2022).

Os anticorpos monoclonais anti-NGF apresentam uma boa eficácia, nomeadamente o frunevetmab cujo efeito analgésico se desenvolve a partir de seis dias após a administração (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2021). Um estudo duplo cego foi realizado em 275 gatos para avaliar a eficácia do Solensia® baseando-se na avaliação da dor pelos tutores e por médicos veterinários, e revelou que o fármaco permite uma melhoria significativa na redução da dor após 28 dias segundo os tutores e 56 dias segundo a avaliação realizada pelos médicos veterinários (Gruen et al., 2021). Apesar de em alguns casos o resultado ser obtido unicamente após a segunda administração, o bedinvetmab, mostrou-se uma molécula com elevada eficácia (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2020).

Para além da eficácia, são fármacos convenientes porque requerem uma administração mensal por via subcutânea, o que é uma grande vantagem, quer para o animal, quer para os tutores (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2020, 2021). A administração do fármaco é indolor; esta propriedade é relevante em relação a outros tratamentos desta doença que são dolorosos, como, por exemplo o

tratamento com os ácidos oleico, palmítico e esteárico (ARA 3000® BETA) que é um tratamento sintomático da artrose canina, por administração mensal de um gel de três ácidos gordos por via intramuscular e cujo mecanismo de ação consiste em inibir a produção de leucotrienos e a desgranulação dos mastócitos responsáveis pela inflamação (Anses, 2019).

O bedinvetmab (Librela®) apresenta uma elevada segurança. De acordo com o seu RCP, as reações adversas reportadas apenas são reações no local de administração e reações de hipersensibilidade ou de desenvolvimento de anticorpos anti-bedinvetmab, que são muito raras, mas que podem originar uma diminuição ou ausência da sua eficácia (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2020). No RCP do frunevetmab (Solensia®), é notificado que entre 1 e 10 em 100 animais tratados desenvolvem efeitos indesejáveis do tipo reações cutâneas focais no local de administração (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2021), sendo este o principal efeito secundário. Para além disso, podem ocorrer reações adversas desconhecidas. Por exemplo, os efeitos secundários potenciais do frunevetmab não foram estudados nos gatos atingidos pela doença renal crónica de estadios 3 e 4 de acordo com a classificação da *International Renal Interest Society* (IRIS) (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2021).

Para além disso, os dois anticorpos monoclonais anti-NGF são específicos de cada espécie; a “PETisação” é, assim, uma garantia de segurança sendo que reduz a imunogenicidade das imunoglobulinas (Debaene, 2022).

No que se refere às contraindicações, a administração do frunevetmab e bedinvetmab é contraindicada nos animais de menos de 1 ano de vida e o frunevetmab não pode ser usado em gatos com menos de 2,5 kg de peso vivo (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2020, 2021).

O custo do tratamento é também uma limitação (Debaene, 2022).

3.3. Anticorpos monoclonais em oncologia veterinária

Atualmente, as doenças oncológicas apresentam uma prevalência elevada nos animais de companhia, devido à sua maior longevidade (Pinto dos Reis, 2019).

Foram descritas 6 características próprias ao desenvolvimento tumoral nos cancros humanos, são chamadas de “hallmarks”. Primeiro, as células tumorais são resistentes à morte celular programada, a apoptose; para além disso, estas células são autossuficientes na sinalização do crescimento e não respondem aos sinais inibitórios de crescimento. Para além disso, têm um potencial de imortalidade através da replicação ilimitada, podem induzir angiogénese e são capazes invadir os tecidos adjacentes e metastizar (Hanahan & Weinberg, 2011). Em 2011, foram acrescentados dois princípios aos seis precedentes: a reprogramação do metabolismo celular para promover a proliferação neoplásica e a

capacidade a escapar ao sistema imunitário e a evadir à destruição imunológica pelos macrófagos, células *Natural-Killer* (NK) e os linfócitos B e T (Hanahan & Weinberg, 2011). Os tumores podem escapar ao sistema imunitário por diferentes vias, e alguns tumores não provocam inflamação e não expressam antigénios *non-self* o que torna o desenvolvimento de anticorpos monoclonais mais complicado (Pinto dos Reis, 2019).

Atualmente, as terapias mais frequentemente usadas nos tratamentos oncológicos são a cirurgia, a quimioterapia, a radioterapia e a imunoterapia. Os anticorpos monoclonais incluem-se na imunoterapia passiva, e inserem-se nas terapias-alvo, ou seja, atuam unicamente nas células tumorais (não afetando as células saudáveis), o que representa uma grande evolução em comparação com os tratamentos que atuam por citotoxicidade que são responsáveis por vários efeitos secundários nos animais tratados. São moléculas eficazes e seletivas que atuam por mecanismos de ação específicos envolvidos na progressão da malignidade (Marconato et al., 2015). Para além disso, na área da oncologia, os anticorpos monoclonais poderão constituir um tratamento curativo e não unicamente paliativo ao contrário da maioria dos tratamentos atuais (Pinto dos Reis, 2019).

3.3.1. Anticorpos monoclonais humanos nas terapias oncológicas veterinárias

Os anticorpos monoclonais ocupam um lugar preponderante nas bioterapias para tratamento de doenças oncológicas em medicina humana. De facto, é um dos métodos terapêuticos contra o cancro que apresenta uma eficácia elevada, resposta imediata, por não inibir a imunidade endógena e por não apresentarem uma toxicidade tão elevada como a quimioterapia (Pinto dos Reis, 2019). No entanto, poucos ensaios clínicos foram realizados em medicina veterinária (Beirão et al., 2016). Para além disso, sabe-se que os anticorpos monoclonais apresentam ações contra os tumores no desenvolvimento de respostas imunitárias adaptativas anti-tumorais (Anderson & Modiano, 2015). Os mecanismos de ação dos anticorpos monoclonais são diversos, e incluem os mecanismos de citotoxicidade como a ADCC por recrutamento de células citotóxicas e como a CDC por ligação dos anticorpos monoclonais às proteínas do complemento; a inibição dos fatores de crescimento e da proliferação tumoral através da ligação (e bloqueio) a recetores específicos (Mahmuda et al., 2017). Também podem ter uma ação inibidora nas vias de sinalização e checkpoints imunológicos (Anderson & Modiano, 2015). A ADCC é considerada o mecanismo de ação mais importante dos anticorpos monoclonais anti-tumorais; a CDC é uma via menos eficiente porque as células tumorais resistem à ativação do sistema do complemento (Pinto dos Reis, 2019). Em medicina veterinária, pouco se sabe sobre as classes de anticorpos que são capazes induzir a ADCC (Klingemann, 2021).

Atualmente, não existe nenhum anticorpo monoclonal aprovado e eficaz no tratamento de doenças oncológicas em animais de companhia. São conhecidos poucos antigénios caninos e felinos envolvidos no cancro, e por este motivo, foi primeiramente investigada a reatividade cruzada de alguns anticorpos monoclonais humanos (Klingemann, 2021). Em 1992, O Departamento da Agricultura dos Estados- Unidos (USDA) aprovou o uso de um anticorpo monoclonal murino, o mAb231, no linfoma não Hodgkin

canino. Foi aprovado como terapia adjuvante após indução de uma remissão por quimioterapia. Este fármaco foi retirado do mercado, não obstante sua atividade *in vivo* e *in vitro* (Dias et al., 2021). O seu mecanismo de ação não era conhecido, nem o epítipo envolvido, e sendo que não foi anticorpo monoclonal “caninizado”, mas de origem murina, poderia provocar reações adversas por falta de especificidade (Pinto dos Reis, 2019).

Em 1997, a Administração Federal de Alimentos e Medicamentos (FDA) autorizou o uso do rituximab em medicina humana, um anticorpo monoclonal recombinante quimérico murino/humano cujo alvo é o marcador de superfície CD20, expresso na superfície dos linfócitos B mutados no Linfoma não-Hodgkin indolente refratário das células B. O CD20 é expresso em grande quantidade unicamente nas células B mutadas (Pinto dos Reis, 2019). O rituximab atua por mecanismo de citotoxicidade, mas foi concluído que não pode ser usado no tratamento dos linfomas das células B dos canídeos por falta de eficácia e imunogenicidade. De facto, o rituximab não é um anticorpo monoclonal específico da espécie canina e não apresenta os marcadores CD20 caninos como alvo (Anderson & Modiano, 2015). A falta de homologia entre o epítipo CD20 canino e humano pode ser devida a uma diferença de um único aminoácido (Klingemann, 2021). Assim, a administração de rituximab nos cães pode provocar reatividade cruzada e assim não é um bom candidato para tratar o linfoma canino (Marconato et al., 2015).

Foi também provado que o cetuximab e o trastuzumab, dois anticorpos monoclonais antagonistas dos recetores tirosina-quinase, têm a capacidade de ligar algumas linhas celulares caninas, embora sejam respetivamente quimérico e humano (Klingemann, 2021). Esta propriedade poderá ter um interesse no estudo de terapias e na investigação. Existe uma homologia significativa destes dois anticorpos monoclonais entre as espécies e foi provado que se conseguem ligar às células de carcinoma mamário canino e inibir a sua proliferação (Pinto dos Reis, 2019).

O cetuximab atua por bloqueio da ligação do fator de crescimento epidérmico (EGF) no seu recetor (EFGR) e está indicado no tratamento do cancro do cólon onde limita a sinalização na origem da proliferação e da migração das células vasculares (Pinto dos Reis, 2019). O recetor EFGR é um recetor membranal da tirosina-quinase responsável pela homeostasia e pelo crescimento das células epiteliais (Dacasto et al., 2022).

O trastuzumab é usado no tratamento dos carcinomas mamários metastáticos em humanos onde atua nos recetores 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER-2) sobreexpressos e foi provado que a presença deste recetor está aumentada nos carcinomas mamários felinos (Pinto dos Reis, 2019).

A preocupação na administração com estes dois anticorpos monoclonais é a imunogenicidade que podem ocasionar pelo facto não serem específicos dos canídeos e dos felídeos (Pinto dos Reis, 2019). Em 2022, um estudo *in vitro* comprovou que o cetuximab inibe a ativação do recetor EFGR e que permite diminuir a proliferação e a viabilidade celular. Este estudo foi feito no âmbito da avaliação da eficácia do cetuximab nas células mutadas felinas, sendo que o EFGR é um recetor alvo em medicina humana no tratamento dos carcinomas das células escamosas da cabeça e pescoço. Assim, o

cetuximab tem uma atividade antineoplásica potencial no carcinoma das células escamosas oral felino e poderá fazer parte de futuros estudos translacionais para ser usado em gatos (Dacasto et al., 2022).

Sendo que estes dois anticorpos se ligam as células caninas, foram usados em investigação e foi provado que as células NK caninas possuem uma função ADCC contra as células tumorais revestidas por estes anticorpos monoclonais. Assim, a ativação das células NK *in vivo* poderá permitir amplificar a eficácia da imunoterapia no tratamento dos câncros caninos (Kim et al., 2019).

3.3.2. Desenvolvimento de anticorpos monoclonais específicos de animais de companhia

Mais recentemente, foram desenvolvidos dois anticorpos monoclonais “caninizados” com alvos nas células T e B e foram aprovados pela USDA no tratamento do linfoma canino. Estes fármacos são, respetivamente o tamtuvetmab (Tactress®) e o blontuvetmab (Blontress®). Após um estudo prospetivo, foi demonstrado que não apresentam eficácia clínica e foram removidos do mercado. (Vail et al., 2019).

O desenvolvimento de inibidores de checkpoints imunitários nos câncros humanos motivou a investigação de equivalentes caninos, nomeadamente na função da proteína de morte celular programada (PD-1) e do seu ligante (PD-L1) nos tecidos tumorais (Klingemann, 2021). Esta proteína é um recetor localizado à superfície dos linfócitos T e expresso pelas células tumorais. A ligação do ligante ao recetor provoca uma imunossupressão e é um mecanismo de evasão tumoral ao sistema imunitário; assim bloquear o PD-1 pode ser uma estratégia de tratamento (Pinto dos Reis, 2019). Um ensaio com um anticorpo monoclonal quimérico canino contra o PD-L1 administrado em cães com melanoma oral e sarcoma mostrou duas respostas parciais em nove animais (Klingemann, 2021). Em 2023, um anticorpo monoclonal canino anti-PD-1 foi administrado num cão com adenocarcinoma das glândulas salivares. Após dois meses com tratamento, o tumor atingiu uma remissão parcial, o que é muito promissor porque prova a eficácia por uma resposta ao tratamento por bloqueio do PD-1 (Xu et al., 2023).

Atualmente, o desafio é desenvolver anticorpos monoclonais mais específicos e mais eficazes para tratar o linfoma canino e outras neoplasias em animais de companhia. Foi realizado um ensaio para avaliar o bloqueio do CD47 combinado com imunoterapia passiva por anticorpos monoclonais anti-CD20, e os resultados sugerem que possa ser uma estratégia no tratamento do linfoma canino (Weiskopf et al., 2016).

3.4. Aplicação dos anticorpos monoclonais no diagnóstico e no tratamento de infeções víricas

3.4.1. Uso dos anticorpos monoclonais no diagnóstico da infeção por SARS-CoV 2

No contexto da pandemia mundial do coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV 2), foi desenvolvido um painel de testes para detetar a presença do vírus nos humanos. Foi também

provado que os animais de companhia são sensíveis a este vírus. Foram desenvolvidos vários anticorpos monoclonais contra a proteína nucleocapside do vírus, e a partir deles, foi desenvolvido um ensaio imunoenzimático baseado em anticorpos monoclonais (mAb-based bELISA), que é um teste serológico válido para qualquer espécie, que permite identificar os animais expostos ao vírus. A particularidade deste teste é que os anticorpos monoclonais são usados para bloquear locais não específicos e assim melhorar a especificidade e a sensibilidade do método, reduzindo as reações não específicas. O desenvolvimento destes anticorpos monoclonais poderá ter um interesse quer no diagnóstico quer nos estudos sobre este vírus. (Yuan et al., 2023).

3.4.2. Anticorpos monoclonais no tratamento da infeção pelo parvovírus canino

O parvovírus canino é um vírus DNA que infeta as células com taxa de divisão rápida como as do trato gastrointestinal, da medula óssea, do tecido linfóide e os cardiomiócitos. A doença provoca inapetência, letargia, vômitos e diarreia com uma taxa de mortalidade até 90% (Mazzaferro, 2020). O método de prevenção mais eficiente é a vacinação dos cachorros (Mazzaferro, 2020) sendo que não existia nenhum tratamento etiológico disponível até à data.

Em 2022, foi sintetizado um novo anticorpo quimérico canino/murino expresso por técnicas recombinantes em células de OHC. As regiões variáveis da proteína são de origem murina e as constantes são de origem canina. Este anticorpo monoclonal 11D9 apresentou capacidade de inibição e de neutralização do CPV-2 e um efeito terapêutico em Beagles infetados com o variante CPV-2a (Zhou et al., 2022).

No dia 2 de maio de 2023, a USDA aprovou condicionalmente o primeiro anticorpo monoclonal contra o parvovírus canino. Os ensaios clínicos mostraram uma elevada eficácia após uma administração única por via endovenosa nos cães infetados pelo parvovírus, independentemente do estatuto vacinal. Foi também provada a inocuidade deste primeiro tratamento contra o parvovírus que pode ser administrado a partir das oito semanas de vida (Igohe-Moradel, 2023). Ainda não se sabe se existem efeitos adversos a longo prazo, nem se conhecem as guidelines terapêuticas da infeção por parvovírus canino, e se este fármaco deve ser usado como primeira linha de tratamento, ou isoladamente ou em combinação com tratamento de suporte. No entanto, poderá evitar ou diminuir a necessidade de hospitalização e terapia de suporte.

4. PERSPECTIVAS FUTURAS E LIMITAÇÕES RELATIVAS À UTILIZAÇÃO DOS ANTICORPOS MONOCLONAIS NOS ANIMAIS DE COMPANHIA

4.1. Anticorpos monoclonais na redução do uso de antimicrobianos

O relatório da vigilância da resistência aos antimicrobianos na Europa em 2020 mostrou que em cada ano, estas resistências são responsáveis por mais de 670000 infeções (European Center For Disease Prevention and Control, 2022). A antibioresistência é uma das maiores ameaças à saúde humana e animal. Atualmente, a utilização dos antimicrobianos em medicina veterinária está a ser revista numa abordagem *One Health*. Este conceito defende a ideia de que a saúde humana, a saúde animal e a saúde do ambiente são interdependentes e são ligadas à dos ecossistemas (WOAH, 2023). Assim, desde 2017, a OMS recomenda uma redução da utilização das classes de antibióticos importantes para a saúde humana em medicina veterinária (Committee for Medicinal Products for Veterinary use, 2019). Por este motivo, é necessário encontrar terapias alternativas, e alguns autores sugerem que a terapia com anticorpos monoclonais poderia ser uma possibilidade.

A utilização do lokivetmab no tratamento da DAC ilustra esta ideia. A DAC é uma doença que é frequentemente complicada por infeções bacterianas secundárias, como as piodermatites bacterianas (Griffin & Deboer, 2001); assim o controlo do prurido através da administração de anticorpos monoclonais como o lokivetmab diminui o risco de desenvolvimento de uma infeção bacteriana devida ao autotraumatismo que necessitará um tratamento que inclui um antimicrobiano.

Para além disso, os anticorpos monoclonais podem ter vários mecanismos de ação como à ligação à antigénios de superfície de células bacterianas ou a fatores de virulência e toxinas bacterianas. Esta propriedade permite potenciar a sinalização e a destruição pelas células imunitárias e assim ter um papel no tratamento de infeções bacterianas (Tschudin-Sutter, 2018). O bezlotoxumab é um anticorpo monoclonal que tem uma boa afinidade para a toxina B do *Clostridium difficile*, que foi autorizado pela FDA em 2016, e que representa uma terapia alternativa no tratamento das infeções bacterianas (Tschudin-Sutter, 2018).

4.2. Segurança e reações adversas dos anticorpos monoclonais

A utilização dos anticorpos monoclonais é considerada como promissora e poderá tornar-se uma realidade cada vez mais importante na indústria farmacêutica veterinária pela sua eficácia e segurança. Os exemplos apresentados atrás mostram a elevada segurança dos anticorpos monoclonais, nomeadamente no que respeita à farmacocinética. Esta segurança é devida à elevada especificidade destas moléculas, que são consideradas terapias personalizadas. Assim, evitam-se muitos efeitos adversos tais como os que ocorrem em oncoterapia, onde os anticorpos monoclonais atuam num alvo específico, pelo que não provocam lesões em células saudáveis como é o caso das terapias citotóxicas (Pinto dos Reis, 2019).

Os três anticorpos monoclonais que estão disponíveis no mercado veterinário europeu são muito recentes; no entanto, promissora sua elevada eficácia pode ser um impulsionador para investigar e desenvolver novos fármacos para os animais de companhia. Apesar de serem considerados seguros, os anticorpos monoclonais podem provocar algumas reações adversas. Primeiro, não são sempre

isentos de imunogenicidade, ou seja, podem desencadear reações imunitárias, o que não é o efeito desejado quando se usam estas moléculas. Por exemplo, no RCP do lokivetmab (Cytoint®) ou do bedinvetmab (Librela®) é indicado que se podem desenvolver, raramente, anticorpos dirigidos contra o anticorpo monoclonal permanentes ou transitórios que inibem ou diminuem a eficácia da resposta ao tratamento (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2017, 2020). Este efeito não provoca lesões, mas tem um impacto na resposta do animal ao tratamento, o que não é desejável.

Para além disso, o lokivetmab pode provocar outros tipos de reações consideradas raras ou raríssimas (respetivamente 1 a 10 animais por 10000 ou menor de 1 em 10000 animais) tais como hipersensibilidade, vómitos, diarreia, sinais neurológicos, lesões no local de injeção ou distúrbios imunitários como trombocitopenia ou anemia hemolítica (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2017).

Para além disso, na imunoterapia passiva em oncologia, os anticorpos monoclonais podem-se ligar a células saudáveis (não malignas), o que pode originar reações adversas (Dougan & Dranoff, 2009).

Existem também outros aspetos que têm de ser estudados, como por exemplo a utilização do lokivetmab e dos anticorpos monoclonais com alvo no NGF em animais gestantes ou lactantes (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2017, 2020, 2021). Em primatas, foi comprovado que o uso do anticorpo monoclonal anti-NGF humano provoca efeitos teratogénicos e fetotóxicos. (Comitee of Veterinary Medicinal Products, 2020, 2021). Também para o frunvetmab não foram estudados a eficácia e a inocuidade do produto em gatos com doença renal crónica de estadios 3 e 4 da classificação IRIS.

As reações adversas devidas às interações medicamentosas também não são totalmente conhecidas. Sabe-se que nos humanos, o uso concomitante de anticorpos monoclonais anti-NGF e de anti-inflamatórios não esteróides (AINE) piora a artrose, promovendo uma evolução mais rápida do processo degenerativo; este efeito não foi evidenciado no cão ou no gato porque a terapia com anticorpos monoclonais anti-NGF é ainda muito recente (CVMP, 2020, 2021; Hochberg, 2015).

Assim, são necessários mais estudos sobre a segurança dos anticorpos monoclonais, não os usar *off label* e reportar qualquer reação adversa destes fármacos para assegurar a farmacovigilância.

4.3. Dificuldades da implementação desde a investigação até a introdução no mercado

Embora os anticorpos monoclonais apresentem um elevado potencial de aplicação em medicina veterinária, encaram alguns desafios. O custo que representa a investigação, a produção e a Autorização de Introdução no Mercado (AIM) e os desafios relativos à tecnologia e a criação de moléculas específicas chamadas de anticorpos singénicos são as principais limitações (Beirão et al., 2016). Por exemplo, em oncologia veterinária, foram realizadas poucas tentativas de “caninização” de

anticorpos monoclonais ou de avaliação dos efeitos de anticorpos monoclonais humanizados por questões financeiras (Marconato et al., 2015). Para além da investigação, estas bioterapias apresentam também um custo elevado para os tutores, o que é também uma limitação à sua aplicação clínica (Debaene, 2022).

Para além disso, o desconhecimento sobre os antígenos alvo em medicina veterinária, nomeadamente em oncologia, e sobre o seu mecanismo de ação (Klingemann, 2021) acrescenta dificuldades na investigação sobre os anticorpos veterinários para animais de companhia.

5. CONCLUSÃO

Os anticorpos monoclonais são moléculas que apresentam diferentes características que os tornam fármacos de elevado interesse na investigação da sua aplicação clínica em diferentes doenças em medicina veterinária.

Os anticorpos monoclonais veterinários apresentam elevada eficácia e segurança, o que justifica o aumento da sua utilização em medicina veterinária, nomeadamente (até à data), no tratamento do prurido e das lesões associadas em cães com DAC, e no controlo da dor em cães e gatos com doença articular degenerativa. Para além destas áreas, vários ensaios foram também conduzidos em oncoterapia veterinária, apresentando resultados muito promissores, pelo que é expectável que no futuro os anticorpos monoclonais sejam usados no tratamento de diferentes tumores em medicina veterinária, à semelhança do que já ocorre em medicina humana. Em maio 2023, foi anunciada a autorização condicional pela UDSA do primeiro anticorpo monoclonal com eficácia no tratamento da parvovirose; no entanto é necessário avaliar a eficácia e segurança desta terapia a longo prazo.

Os anticorpos monoclonais têm também um potencial de diagnóstico, como foi discutido com o estudo do diagnóstico do SARS-CoV-2 em animais de companhia,

Para além disso, os anticorpos monoclonais poderão também ter um papel importante na redução do uso de antimicrobianos. A utilização de terapias-alvo muito específicas pode constituir uma alternativa sustentável à antibioterapia, como na utilização do lokivetmab ou no potencial desenvolvimento de anticorpos monoclonais com alvo nos marcadores de superfície das bactérias. É assim essencial desenvolver este tipo de terapias alternativas para abranger o conceito de *One Health* e para limitar a antibioresistência.

No que diz respeito aos desafios da sua aplicação clínica em medicina veterinária, a viabilidade comercial continua a ser uma das limitações principais. No entanto, como o processo de sintetização dos anticorpos monoclonais e de “PETização” estão mais desenvolvidos, podem tornar-se menos dispendiosos.

De salientar ainda que apesar de os estudos realizados até à data mostrarem um elevado perfil de segurança destas moléculas, é necessário considerar que os efeitos a longo prazo são ainda desconhecidos, uma vez que a sua utilização em medicina veterinária é muito recente.

BIBLIOGRAFIA

- Anderson, K. L., & Modiano, J. F. (2015). Progress in adaptive immunotherapy for cancer in companion animals: Success on the path to a cure. In *Veterinary Sciences* (Vol. 2, Issue 4, pp. 363–387). MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/vetsci2040363>
- Anses. (2019). Résumé des caractéristiques du produit ARA 3000 BETA. <http://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=ARA+3000+BETA>
- Azam, A. (2018). Etude de la réponse des lymphocytes T spécifiques de l'hormone humaine H2-relaxine et de modifications non-naturelles : perspectives pour la réduction de l'immunogénicité des protéines et peptides thérapeutiques. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02426003>
- Beirão, B. C. B., Raposo, T., Jain, S., Hupp, T., & Argyle, D. J. (2016). Challenges and opportunities for monoclonal antibody therapy in veterinary oncology. *The Veterinary Journal*, 218, 40–50. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.11.005>
- Bernard, J. (2014). Biomédicaments en France état des lieux 2014.
- Bordessoules, J. (2023). Utilisation des anticorps monoclonaux en thérapie anti-cancéreuse et perspectives d'application en médecine vétérinaire.
- Comitee of Veterinary Medicinal Products. (2013). Résumé des caractéristiques du produit Apoquel.
- Comitee of Veterinary Medicinal Products. (2017). Résumé des caractéristiques du produit Cytopoint.
- Comitee of Veterinary Medicinal Products. (2020). Résumé des caractéristiques du produit Librela.
- Comitee of Veterinary Medicinal Products. (2021). Résumé des caractéristiques du produit Solensia.
- Committee for Medicinal Products for Veterinary use. (2019). Catégorisation des antibiotiques à usage vétérinaire pour une utilisation prudente et responsable. <https://bit.ly/2s7LUF2>
- Dacasto, M., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Bergkvist, G. T., Pawlak, A., Borzacchiello, G., & Altamura, G. (2022). Anti-EGFR monoclonal antibody Cetuximab displays potential anti-cancer activities in feline oral squamous cell carcinoma cell lines.
- Debaene, F. (2022). Pharmacologie comparée des anticorps monoclonaux anti-NGF chez l'homme et les carnivores domestiques dans le traitement de la douleur arthrosique.
- Diallo, B. K., Riffard, C., Le Gouge, K., & Teillaud, J. L. (2019). MABs: The history of a basic research or the curiosity as a source of wealth. *Medecine/Sciences*, 35(12), 926–936. <https://doi.org/10.1051/medsci/2019222>
- Dias, J. N. R., André, A. S., Aguiar, S. I., Gil, S., Tavares, L., & Aires-da-Silva, F. (2021). Immunotherapeutic Strategies for Canine Lymphoma: Changing the Odds Against Non-Hodgkin Lymphoma. In *Frontiers in Veterinary Science* (Vol. 8). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.621758>
- Dougan, M., & Dranoff, G. (2009). Immune Therapy for Cancer. *Annual Review of Immunology*, 27(1), 83–117. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132544>
- European Center For Disease Prevention and Control. (2022). Antimicrobial resistance surveillance in Europe, 2022 - 2020 data.
- European Medicines Agency. (2017). First monoclonal antibody in veterinary medicine recommended for marketing authorisation. www.ema.europa.eu
- Fox, S. M., & Millis, D. L. (2010). Multimodal management of canine osteoarthritis. Manson Pub Ltd.
- Griffin, C. E., & Deboer, D. J. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis.
- Gruen, M. E., Myers, J. A. E., Tena, J. K. S., Becskei, C., Cleaver, D. M., & Lascelles, B. D. X. (2021). Frunevetmab, a felinized anti-nerve growth factor monoclonal antibody, for the treatment of pain from osteoarthritis in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 35(6), 2752–2762. <https://doi.org/10.1111/jvim.16291>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. In *Cell* (Vol. 144, Issue 5, pp. 646–674). <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>

- Heitzmann, A. (2013). Utilisation d'un anticorps monoclonal anti-Tn en immunothérapie des cancers.
- Hensel, P., Santoro, D., Favrot, C., Hill, P., & Griffin, C. (2015). Canine atopic dermatitis: Detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Veterinary Research*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0515-5>
- Hochberg, M. C. (2015). Serious joint-related adverse events in randomized controlled trials of anti-nerve growth factor monoclonal antibodies. *Osteoarthritis and Cartilage*, 23, S18–S21. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2014.10.005>
- Humbert, A. (2020). L'arthrose du chat, état des connaissances et étude expérimentale d'une nouvelle approche diagnostique.
- Igoho-Moradel, M. (2023). Un nouveau traitement contre le parvovirus canin approuvé par l'USDA - Le Point Vétérinaire.fr. <https://www.lepointveterinaire.fr/actualites/actualites-professionnelles/un-nouveau-traitement-contre-le-parvovirus-canin-approuve-par-l-usda.html>
- Impellizeri, J.A., Howel, K., Mckeever, K.P., & Crow, S. (2006). The role of rituximab in the treatment of canine lymphoma: An ex vivo evaluation. *The Veterinary Journal*, 556–558.
- Kim, Y., Lee, S. H., Kim, C. J., Lee, J. J., Yu, D., Ahn, S., Shin, D. J., & Kim, S. K. (2019). Canine non-B, non-T NK lymphocytes have a potential antibody-dependent cellular cytotoxicity function against antibody-coated tumor cells. *BMC Veterinary Research*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2068-5>
- Klingemann, H. (2021). Immunotherapy for Dogs: Still Running Behind Humans. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.665784>
- Krautmann, M., Walters, R. R., King, V. L., Esch, K., Mahabir, S. P., Gonzales, A., Dominowski, P. J., Sly, L., Mwangi, D., Foss, D. L., Rai, S., Messamore, J. E., Gagnon, G., Schoell, A., Dunham, S. A., & Martinon, O. M. (2023). Laboratory safety evaluation of lokivetmab, a canine anti-interleukin-31 monoclonal antibody, in dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 258. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2023.110574>
- Lacotte, Y., Francois, B., Brun-Buisson, C., Jouvin-Marche, E., & Ploy, M. C. (2019). Research on antibacterial strategies: New tracks and challenges? *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 203(3–4), 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.banm.2019.02.007>
- Lascelles, B. D. X. (2010). Feline degenerative joint disease. In *Veterinary Surgery* (Vol. 39, Issue 1, pp. 2–13). <https://doi.org/10.1111/j.1532-950X.2009.00597.x>
- Le Blaye, I. (2004). Pathogénie de l'arthrose : l'arthrose épuise peu à peu le cartilage sans le renouveler. *Point Vét. (Supplément)*, N°251, 6–9.
- Lebranchu, Y. (2018). Séance des membres correspondants de la 1 re division : « Les biothérapies dans les maladies inflammatoires chroniques » Histoire des anticorps thérapeutiques. In *Bull. Acad. Natle Méd* (Vol. 202, Issue 9).
- Loeser, R. F., Goldring, S. R., Scanzello, C. R., & Goldring, M. B. (2012). Osteoarthritis: A disease of the joint as an organ. In *Arthritis and Rheumatism* (Vol. 64, Issue 6, pp. 1697–1707). <https://doi.org/10.1002/art.34453>
- Mahmuda, A., Bande, F., Al-Zihiry, K. J. K., Abdulhaleem, N., Majid, R. A., Hamat, R. A., Abdullah, W. O., & Unyah, Z. (2017). Monoclonal antibodies: A review of therapeutic applications and future prospects. In *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* (Vol. 16, Issue 3, pp. 713–722). University of Benin. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v16i3.29>
- Marconato, L., Burraco, P., & Aresu, L. (2015). Perspectives on the design of clinical trials for targeted therapies and immunotherapy in veterinary oncology. *The Veterinary Journal*, 205(2), 238–243.
- Mazzaferro, E. M. (2020). Update on Canine Parvoviral Enteritis. In *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice* (Vol. 50, Issue 6, pp. 1307–1325). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2020.07.008>
- McKelvey, L., Shorten, G. D., & O'Keeffe, G. W. (2013). Nerve growth factor-mediated regulation of pain signalling and proposed new intervention strategies in clinical pain management. In *Journal of Neurochemistry* (Vol. 124, Issue 3, pp. 276–289). <https://doi.org/10.1111/jnc.12093>
- Michels, G. M., Ramsey, D. S., Walsh, K. F., Martinon, O. M., Mahabir, S. P., Hoevers, J. D., Walters, R. R., & Dunham, S. A. (2016). A blinded, randomized, placebo-controlled, dose determination trial of lokivetmab (ZTS-00103289), a caninized, anti-canine IL-31 monoclonal antibody in client owned dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 27(6), 478-e129. <https://doi.org/10.1111/vde.12376>
- Niel, C. (2015). Intérêt de l'étude du liquide synovial dans le diagnostic et le traitement de l'arthrose chez le chien.

- WOAH. (n.d.). Une seule santé. 2023. Retrieved June 5, 2023, from <https://www.woah.org/fr/ce-que-nous-faisons/initiatives-mondiales/une-seule-sante/>
- Pastoret, P.-P. (1982). Anticorps monoclonaux et perspectives d'application en médecine vétérinaire.
- Pinto dos Reis, M. (2019). Imunoterapia em oncologia veterinária.
- Piquemal, C., Begon, E., Demay, F., & Laurentie, S. (2022). Traitement des dermatites allergiques et effets indésirables: bilan rétrospectif sur 5 ans. <https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/anses-03858184>
- Tamamoto-Mochizuki, C., Crawford, N., Eder, J. M., Gonzales, A. J., & Olivry, T. (2023). Cytokine transcriptome profiling in acute experimental canine atopic dermatitis skin lesions after IL-31 inhibition with lokivetmab. *Veterinary Dermatology*. <https://doi.org/10.1111/vde.13159>
- Tizard, I. R. (2016). *Veterinary Immunology 10th Edition*.
- Tschudin-Sutter, S. (2018). Infectiologie: Traitements par anticorps pour les infections bactériennes: exemple du bezlotoxumab. *Forum Médical Suisse – Swiss Medical Forum*. <https://doi.org/10.4414/fms.2018.08011>
- Vail, D. M., Pinkerton, M., & Young, K. M. (2019). Hematopoietic Tumors - Section A: Canine lymphoma and lymphocytic leukemias. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-59496-7.00033-5>
- Voss, K., Karli, P., Montavon, P. M., & Geyer, H. (2017). Association of mineralisations in the stifle joint of domestic cats with degenerative joint disease and cranial cruciate ligament pathology. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 19(1), 27–35. <https://doi.org/10.1177/1098612X15606774>
- Weiskopf, K., Anderson, K. L., Ito, D., Schnorr, P. J., Tomiyasu, H., Ring, A. M., Bloink, K., Efe, J., Rue, S., Lowery, D., Barkal, A., Prohaska, S., McKenna, K. M., Cornax, I., O'Brien, T. D., O'Sullivan, M. G., Weissman, I. L., & Modiano, J. F. (2016). Eradication of canine diffuse large B-cell lymphoma in a murine xenograft model with CD47 blockade and anti-CD20. *Cancer Immunology Research*, 4(12), 1072–1087. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-16-0105>
- Xu, S., Xie, J., Wang, S., Tang, N., Feng, J., Su, Y., & Li, G. (2023). Reversing stage III oral adenocarcinoma in a dog treated with anti-canine PD-1 therapeutic antibody: a case report. *Frontiers in Veterinary Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1144869>
- Yuan, F., Chen, C., Covalada, L. M., Martins, M., Reinhart, J. M., Sullivan, D. R., Diel, D. G., & Fang, Y. (2023). Development of monoclonal antibody-based blocking ELISA for detecting SARS-CoV-2 exposure in animals. <https://doi.org/10.1101/2023.03.11.532204>
- Zhou, L., Wu, H., Du, M., Song, H., Huo, N., Chen, X., Su, X., Li, W., Wang, L., Wang, J., Huang, B., Tan, F., & Tian, K. (2022). A canine-derived chimeric antibody with high neutralizing activity against canine parvovirus-2. *AMB Express*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01416-8>

ANEXO I

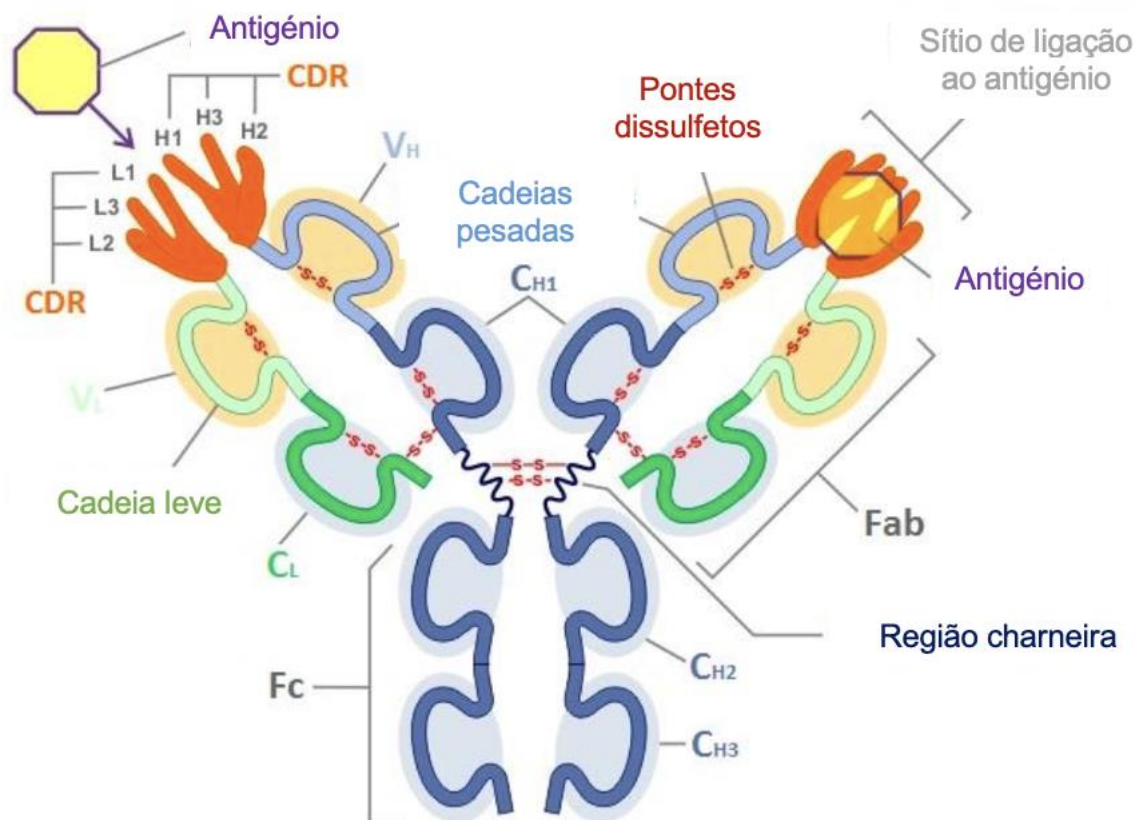


Figura 1: Estrutura geral de um anticorpo de tipo imunoglobina G (Azam, 2018).

CH: região constante da cadeia pesada, CL: região constante da cadeia leve, CDR: região hipervariável, Fab: fragmento de ligação ao antígeno, Fc: região do fragmento cristalizável, VH: região variável da cadeia pesada, VL: região variável da cadeia leve

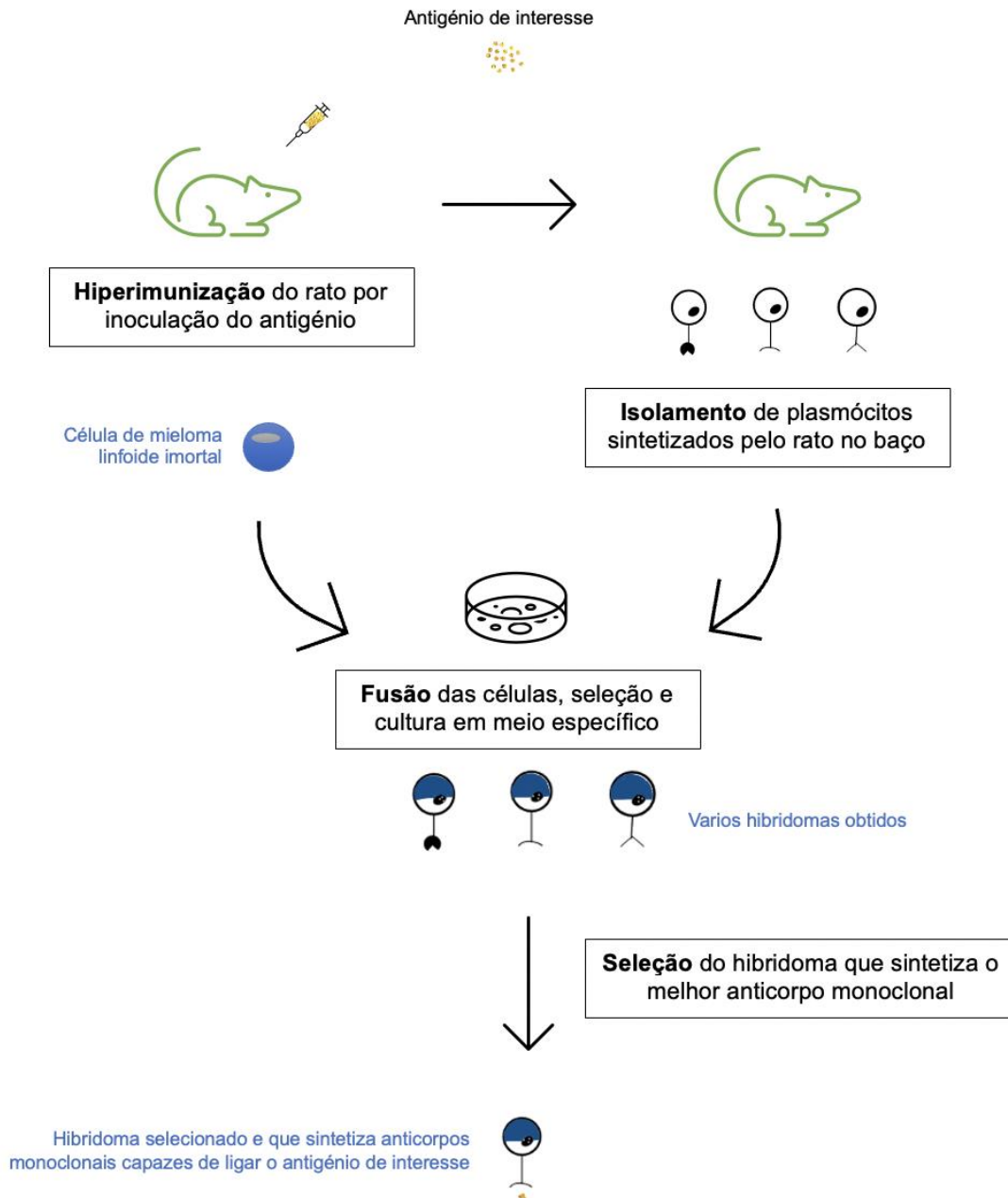


Figura 2: Síntese de anticorpos monoclonais a partir da técnica dos hibridomas descrita por Köhler e Milstein (Blanc S, 2023)