

Anticorpos biespecíficos em neoplasias hematológicas

Bispecific antibodies in hematological malignancies

Daiane de Oliveira Dias¹ , Carlos Alberto Yasin Wayhs^{1,2*} 

¹Escola de Ciências da Saúde e da Vida, Especialização em Oncologia Farmacêutica: Manipulação e Clínica, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, Brasil

²Central de Misturas Intravenosas, Serviço de Farmácia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre – RS, Brasil

*Autor correspondente/Corresponding author: manowayhs@yahoo.com.br

Recebido/Received: 24-07-2023; Revisto/Revised: 27-02-2024; Aceite/Accepted: 28-02-2024

Resumo

Introdução: A imunoterapia é a nova fronteira no tratamento do câncer, desafiando as visões tradicionais em relação ao tratamento da malignidade. Ela abrange o tratamento com inibidores do ponto de checagem imunológico (*check point*), anticorpos monoclonais, células T de recetor quimérico de antígeno (CAR-T) e anticorpos monoclonais biespecíficos (BsAbs). Os BsAbs são medicamentos compostos por um único anticorpo monoclonal, o qual tem dois domínios de ligação que podem ligar-se a dois antígenos diferentes simultaneamente, sendo esta a grande vantagem desta terapia em relação às demais. Por isso, os BsAbs vêm revolucionando os desfechos clínicos em diferentes tipos de cânceres, principalmente os hematológicos, trazendo bons resultados e esperança aos pacientes com linfomas, leucemias e mieloma múltiplo. **Objetivo:** Fornecer uma visão geral atualizada sobre os tratamentos com BsAbs aplicados às principais neoplasias hematológicas, bem como abordar a sua classificação e mecanismo de ação. **Material e Métodos:** Trata-se de uma revisão de literatura a partir de artigos publicados nos últimos 9 anos (2015-2023) na base de dados PubMed (Medline), relacionando neoplasias hematológicas e BsAbs, empregando o descritor: “*Bispecific antibody*”. **Resultados:** Foram encontrados o total de 1530 artigos, sendo que 48 foram incluídos no desenvolvimento desse artigo de revisão. **Conclusões:** Os BsAbs redirecionam a ação das células do sistema imune, gerando uma nova resposta terapêutica, demonstrando ser uma alternativa inovadora na imunoterapia, sendo uma opção de vanguarda que combina a engenharia da biologia molecular e a atividade biológica do sistema imunológico.

Palavras-chave: Anticorpos monoclonais, anticorpos monoclonais biespecíficos, neoplasias hematológicas, linfomas, leucemias, mieloma múltiplo.

Abstract

Introduction: Immunotherapy is the new frontier in cancer treatment, challenging traditional views regarding the treatment of malignancy. It includes treatment with checkpoint inhibitors, monoclonal antibodies, chimeric antigen receptor T cells (CAR-T), and bispecific monoclonal antibodies (BsAbs). BsAbs are drugs composed of a single monoclonal antibody, which has two binding domains that can bind to two different antigens simultaneously, which is the great advantage of this therapy over others. Therefore, BsAbs have revolutionized clinical outcomes for different types of cancer, especially hematological ones, bringing good results and hope to patients with lymphomas, leukemias and multiple myeloma. **Objective:** The present research aims to provide an updated overview of BsAbs treatment applied to the main hematological neoplasms, as well as describe its classification and mechanism of action. **Material and Methods:** This is a literature review based on articles published in the last 9 years (2015-2023) in the PubMed database (Medline), relating hematological malignancies and BsAbs, using the keyword: “*Bispecific antibody*”. **Results:** A total of 1,530 articles were found, of which 48 were included in the development of this review article. **Conclusions:** BsAbs redirect the immune system cells action, generating a new therapeutic response, proving to be an innovative alternative in immunotherapy, being a vanguard option that combines molecular biology engineering and the immune system biological activity.

Keywords: Monoclonal antibodies, bispecific monoclonal antibodies, hematological neoplasms, lymphoma, leukemia, multiple myeloma.

1. INTRODUÇÃO

O câncer é uma das principais causas de morte em todo o mundo, sendo responsável por aproximadamente 10 milhões de mortes no ano de 2020 (IARC Global Cancer Observatory, 2024). Neste mesmo ano, a estimativa mundial de incidência de novos casos de câncer foi de quase 20 milhões (IARC Global Cancer Observatory, 2024). Em relação às principais neoplasias hematológicas como linfomas, leucemias e mieloma múltiplo, a incidência mundial de novos casos estimada foi de mais de 1,2 milhão de pessoas, sendo responsável por mais de 700 mil mortes em todo o mundo no referido ano de 2020 (IARC Global Cancer Observatory, 2024).

Recentemente, grandes avanços foram observados na terapia de direcionamento molecular para quase todas as neoplasias hematológicas (Shimada, 2019). A identificação de potenciais alvos terapêuticos, através do estudo das alterações genéticas e suas expressões fenotípicas características nos mais diferentes tipos de cânceres, resultou no desenvolvimento de inúmeros agentes anti tumorais. Representando o grupo mais variado e bem estudado atualmente estão os anticorpos monoclonais (Coutinho, 2015; Macedo 2018).

Os anticorpos são produzidos pelo organismo auxiliando o sistema imune no combate a vírus, bactérias e, até mesmo, ao câncer, a partir do reconhecimento de antígenos (Tiller & Tessier, 2015). A partir do desenvolvimento da área da biotecnologia, tornou-se viável a produção de anticorpos monoclonais em laboratório, sendo o Trastuzumabe e o Rituximabe grandes exemplos destes, que são específicos para uma única região de um antígeno (epítipo), auxiliando o sistema imune a detectar essas células e a combater mais rapidamente algumas doenças (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022). O tratamento através dos anticorpos monoclonais é também denominado de terapia alvo ou imunoterapia, uma vez que na superfície das células cancerígenas são expressas algumas moléculas alvo que são utilizadas como recetor específico para se ligar ao anticorpo (Tiller & Tessier, 2015).

A terapia com anticorpos monoclonais é de grande apelo e interesse devido à sua possibilidade de oferecer grande especificidade e afinidade tanto para alvos expressos pelas células como para proteínas de superfície. Com o aperfeiçoamento tecnológico das áreas da biologia molecular e da engenharia genética, metodologias foram desenvolvidas para a produção de anticorpos monoclonais quiméricos, humanizados e, por fim, completamente humanos (Suurs *et al.*, 2019). Estes avanços proporcionaram o desenvolvimento de diferentes tipos de anticorpos recombinantes, além de pesquisar o potencial destas e sua possível conjugação a fármacos para a geração dos anticorpos monoclonais biespecíficos (BsAbs) (Tiller & Tessier, 2015).

Os BsAbs são medicamentos compostos por um único anticorpo monoclonal, o qual tem dois domínios de ligação que podem ligar-se a dois antígenos diferentes simultaneamente, sendo esta a grande vantagem desta terapia em relação às demais (Viardot & Bargou, 2018). Além disso, a biespecificidade proporcionou o recrutamento de células específicas do sistema imune que possuem papel importante na fisiopatologia da doença, auxiliando no seu direcionamento até o alvo desejado (Xu *et al.*, 2015). Por isso, os BsAbs vêm revolucionando

1. INTRODUCTION

Cancer is one of the leading causes of death worldwide, accounting for approximately 10 million deaths in 2020 (IARC Global Cancer Observatory, 2024). In the same year, the worldwide estimated incidence of new cancer cases was almost 20 million (IARC Global Cancer Observatory, 2024). In relation to the main hematological neoplasms such as lymphomas, leukemias and multiple myeloma, the estimated global incidence of new cases was more than 1.2 million people, being responsible for more than 700 thousand deaths worldwide in the aforementioned year 2020 (IARC Global Cancer Observatory, 2024).

Recently, major advances have been observed in molecular targeting therapy for almost all hematological malignancies (Shimada, 2019). The potential therapeutic targets identification, through the genetic changes studies and their characteristic phenotypic expressions in the most different types of cancer, has resulted in the numerous antitumor agents development. Representing the most varied and well-studied group currently are monoclonal antibodies (Coutinho, 2015; Macedo 2018).

Antibodies are produced by the body, helping the immune system to combat viruses, bacteria and even cancer, through the antigens recognition. (Tiller & Tessier, 2015). From the biotechnology area development, the production of monoclonal antibodies in the laboratory has become viable, with Trastuzumab and Rituximab being great examples of these, which are specific for a single region of an antigen (epitope), helping the immune system to detect these cells and combat some diseases more quickly (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022). Treatment using monoclonal antibodies is also called targeted therapy or immunotherapy, since some target molecules are expressed on the surface of cancer cells and are used as a specific receptor to bind to the antibody (Tiller & Tessier, 2015).

Monoclonal antibody therapy is of great appeal and interest due to its possibility of offering great specificity and affinity for both targets expressed by cells and surface proteins. With technological improvement in the molecular biology and genetic engineering areas, methodologies were developed for the chimeric, humanized and, finally, completely human monoclonal antibodies productions (Suurs *et al.*, 2019). These advances have led to the development of different recombinant antibodies types, in addition to researching their potential and their possible conjugation to drugs for the generation of bispecific monoclonal antibodies (BsAbs) (Tiller & Tessier, 2015).

BsAbs are drugs composed by a single monoclonal antibody, which has two binding domains that can bind to two different antigens simultaneously, which is the great advantage of this therapy over others (Viardot & Bargou, 2018). Moreover, bispecificity provided the specific cells of the immune system recruitment that play an important role in the disease pathophysiology, helping to direct it to the desired target (Xu *et al.*, 2015). Therefore, BsAbs have been revolutionizing clinical outcomes for different types of cancers, especially hematological ones, bringing good results and hope to patients with lymphomas, leukemias and multiple

os desfechos clínicos para diferentes tipos de cânceres, principalmente os hematológicos, trazendo bons resultados e esperança aos pacientes com linfomas, leucemias e mieloma múltiplo (Lanier *et al.*, 2022).

Nesse contexto, o objetivo deste artigo de revisão foi fornecer uma visão geral atualizada sobre os tratamentos com BsAbs aplicados às principais neoplasias hematológicas, bem como abordar a sua classificação e mecanismo de ação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A revisão de literatura foi executada através da busca de artigos científicos publicados nos últimos 9 anos (2015-2023) na base de dados PubMed (Medline), relacionando neoplasias hematológicas e BsAbs, empregando o descritor: "*Bispecific antibody*". Artigos de revisão, estudos clínicos e artigos originais foram incluídos na busca. Para isso, foram selecionados os seguintes filtros em "*Article Type*" da referida base de dados: *Books and Documents, Classical Article, Clinical Study, Clinical Trial, Comparative Study, Meta-Analysis, Randomized Controlled Trial, Review e Systematic Review*. Importante ressaltar que a data de execução desta revisão de literatura foi em 20 de julho de 2023. Portanto, os resultados de 2023 contemplam os artigos publicados até esta data.

Consultas ao *website* das agências reguladoras dos Estados Unidos da América: *Food and Drug Administration* (FDA); da União Europeia: *European Medicines Agency* (EMA); e do Brasil: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), também foram realizadas, através de notícias oficiais e pareceres técnicos das agências reguladoras supracitadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao iniciar a pesquisa, o descritor "*Bispecific antibody*" resultou em 4244 publicações na base de dados PubMed (Medline). Conforme pode-se observar na Fig. 1, o número de publicações com este tema vem aumentando consideravelmente desde 2015. Nos anos de 2021 e 2022, foram publicados mais de 800 artigos, demonstrando a relevância que os BsAbs vêm ocupando nas pesquisas científicas internacionais, especialmente relacionada ao tratamento do câncer. Tendo em vista o número elevado de artigos encontrados, foram aplicados os critérios de inclusão e exclusão, conforme descrito na metodologia e apresentado na Fig. 2.

É importante ressaltar que a busca de artigos nessa revisão bibliográfica foi realizada somente na base de dados PubMed (Medline), sendo esta considerada uma limitação do estudo, uma vez que outros artigos relevantes sobre o tema proposto podem ter sido publicados em outras bases de dados, não sendo contemplados por este. Além disso, este artigo de revisão referenciou somente publicações a partir do ano de 2015. Considerando que a primeira aprovação de registro de um BsAbs ocorreu em 2014, o acesso aos estudos iniciais e ou com moléculas que não vieram a ter seu registro e utilização aprovados pelos órgãos reguladores também não foram contemplados pelo presente estudo.

Na Tabela 1 foram apresentados os estudos incluídos nesta revisão, com a especificação do autor, ano e tipo de publicação, assim como o tipo de BsAbs aplicável ao estudo.

myeloma (Lanier *et al.*, 2022).

In this context, the objective of this review article was to provide an updated overview of treatments with BsAbs applied to the main hematological neoplasms, as well as to address their classification and mechanism of action.

2. MATERIALS AND METHODS

The literature review was carried out by searching for scientific articles published in the last 9 years (2015-2023) in the PubMed (Medline) database, relating hematological neoplasms and BsAbs, using the descriptor: "*Bispecific antibody*". Review articles, clinical studies and original articles were included in the search. For this, the following filters were selected in "*Article Type*" of the aforementioned database: *Books and Documents, Classical Article, Clinical Study, Clinical Trial, Comparative Study, Meta-Analysis, Randomized Controlled Trial, Review and Systematic Review*. It is important to highlight that the execution date of this literature review was July 20, 2023. Therefore, the results for 2023 include articles published up to this date.

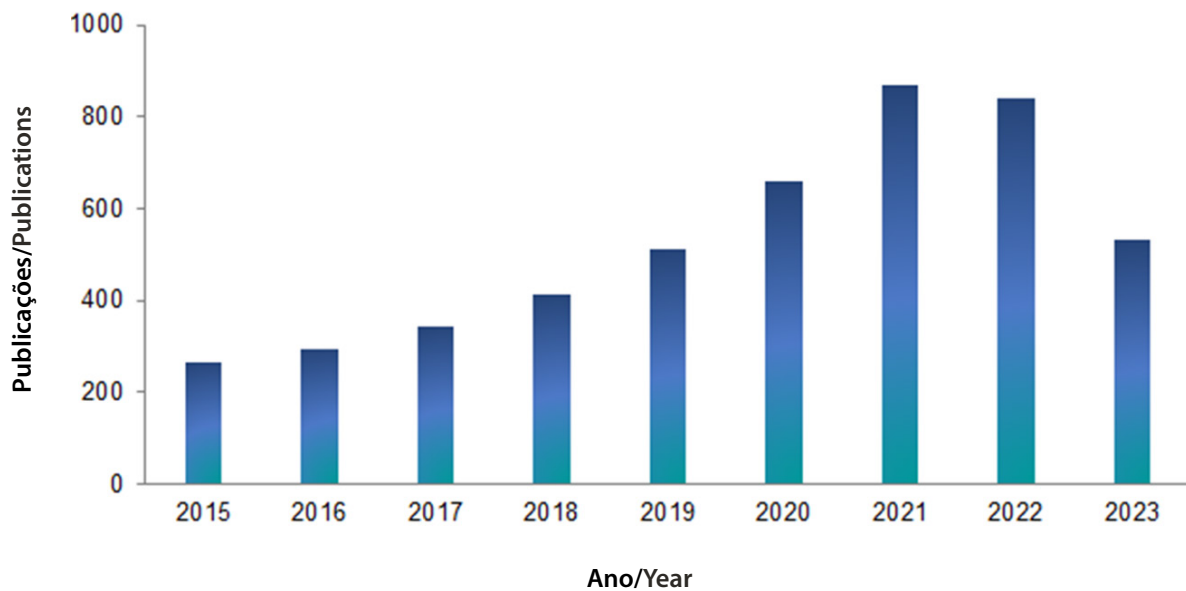
Consultations on the website of regulatory agencies in the United States of America: *Food and Drug Administration* (FDA); from the European Union: *European Medicines Agency* (EMA); and Brazil: *National Health Surveillance Agency* (ANVISA), were also carried out, through official news and technical opinions from the regulatory agencies.

3. RESULTS AND DISCUSSION

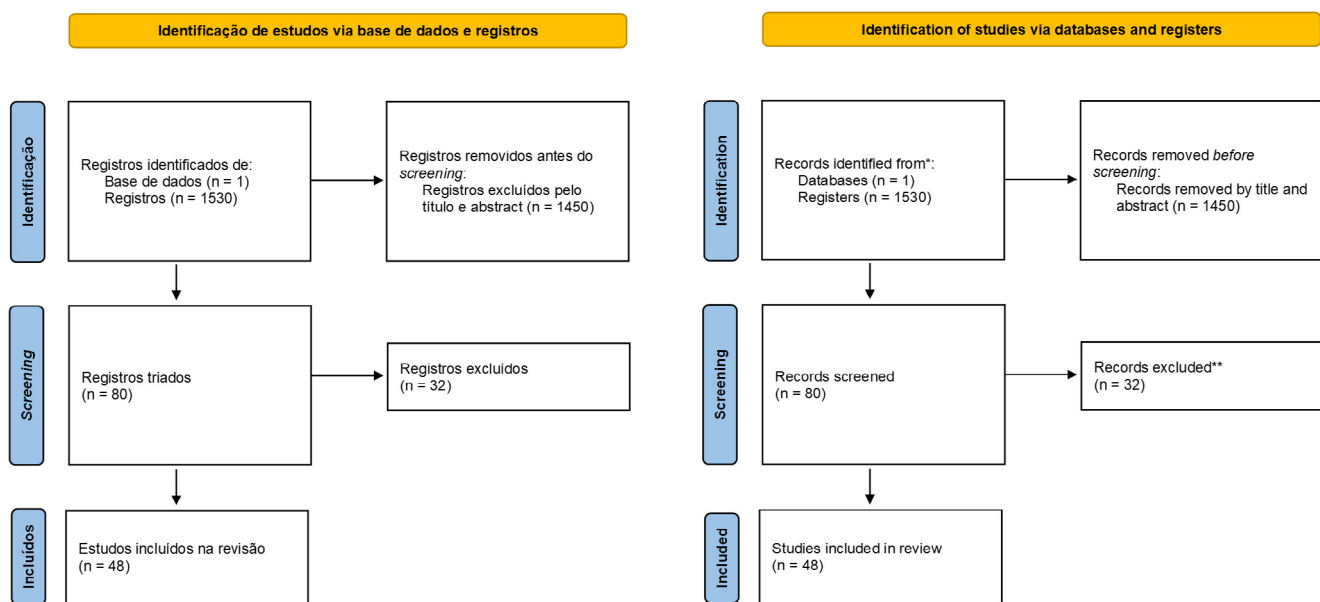
When starting the search, the descriptor "*Bispecific antibody*" resulted in 4244 publications in the PubMed (Medline) database. As can be seen in Fig. 1, the number of publications on this topic has increased considerably since 2015. In the years 2021 and 2022, more than 800 articles were published, demonstrating the relevance that BsAbs have occupied in international scientific research, especially related to cancer treatment. Given the high number of articles found, the inclusion and exclusion criteria were applied, as described in the methodology and presented in Fig. 2.

It is important to highlight that the search for articles in this bibliographic review was carried out only in the PubMed (Medline) database, which is considered a limitation of the study, since other relevant articles on the proposed topic may have been published in other databases, not being covered by this. Furthermore, this review article only referenced publications from 2015 onwards. Considering that the first registration approval of a BsAbs occurred in 2014, access to initial studies and/or molecules that did not have their registration and use approved by regulatory bodies were also not covered by the present study.

Table 1 presents the studies included in this review, specifying the author, year and type of publication, as well as the type of BsAbs applicable to the study.



Figura/Figure 1: Publicações com o descritor "Bispecific antibody" na base de dados PubMed (Medline) nos últimos 9 anos (2015-2023) (acessado em 20/07/2023)/ Publications with the descriptor "Bispecific antibody" in the PubMed (Medline) database in the last 9 years (2015-2023) (accessed on July 20, 2023).



Figura/Figure 2: Fluxograma com a identificação de estudos via base de dados e registros aplicados na revisão bibliográfica (Adaptado de Page MJ et al., 2021)/Flowchart with the studies identification via databases and registers applied in the bibliographic review. Adapted from Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. BMJ 2021;372:n71. doi: 10.1136/bmj.n71.

Tabela/Table 1: Estudos incluídos na revisão/Studies included in the review.

Autor/Author	Ano/Year	Tipo de Publicação/Publication type	BsAbs
Alibakhshi et al.	2017	Revisão/Review	Blinatumomabe
Brinkmann & Kontermann	2017	Revisão/Review	-
Budde et al.	2022	Ensaio Clínico/Clinical Trial	Mosunetuzumabe
Buske et al.	2022	Artigo original/Original Article	Mosunetuzumabe
Clynes & Desjarlais	2019	Revisão/Review	Blinatumomabe
Curran & Stock	2019	Revisão/Review	Blinatumomabe
Dreyling et al.	2017	Ensaio Clínico/Clinical Trial	Mosunetuzumabe
Duell et al.	2019	Revisão/Review	Blinatumomabe

Elgundi et al.	2017	Revisão/Review	-
Fan et al.	2015	Revisão/Review	Blinatumomabe
Ferl et al.	2018	Artigo original/Original Article	Mosunetuzumabe
Girgis et al.	2022	Ensaio Clínico/Clinical Trial	Teclistamab
Gökbuget et al.	2018	Ensaio Clínico/Clinical Trial	Blinatumomabe
Goulet & Atkins	2019	Revisão/Review	-
Hasanzadeh et al.	2018	Artigo original/Original Article	-
Hosseini et al.	2021	Revisão/Review	Teclistamab
Hua et al.	2023	Revisão/Review	Teclistamab
Jen et al.	2019	Estudo Multicêntrico/Multicenter Study	Blinatumomabe
Kang	2022	Revisão/Review	Mosunetuzumabe
Kang	2022	Revisão/Review	Teclistamab
Kantarjian et al.	2017	Ensaio Clínico/Clinical Trial	Blinatumomabe
Kleber et al.	2021	Revisão/Review	Teclistamab
Kontermann & Brinkmann	2015	Revisão/Review	-
Labrijn et al.	2019	Revisão/Review	-
Lanier et al.	2022	Revisão/Review	-
Longhitano et al.	2021	Revisão/Review	-
Lopedote & Shadman	2023	Revisão/Review	Mosunetuzumabe
Ma et al.	2021	Revisão/Review	-
Martinelli et al.	2017	Ensaio Clínico/Clinical Trial	Blinatumomabe
Martinelli et al.	2021	Ensaio Clínico/Clinical Trial	Blinatumomabe
Moreau et al.	2022	Ensaio Clínico/Clinical Trial	Teclistamab
Ordóñez-Reyes et al.	2022	Revisão/Review	-
Rader	2020	Revisão/Review	-
Pillarisetti et al.	2020	Artigo original/Original Article	Teclistamab
Shimada	2019	Revisão/Review	-
Soverini et al.	2019	Revisão/Review	Blinatumomabe
Stackelberg et al.	2016	Ensaio Clínico/Clinical Trial	Blinatumomabe
Sun et al.	2015	Artigo original/Original Article	Blinatumomabe
Suurs et al.	2019	Revisão/Review	-
Tiller & Tessier	2015	Revisão/Review	-
Topp et al.	2015	Ensaio Clínico/Clinical Trial	Blinatumomabe
Usmani et al.	2021	Ensaio Clínico/Clinical Trial	Teclistamab
Velasquez et al.	2018	Revisão/Review	-
Viardot & Bargou	2018	Revisão/Review	Blinatumomabe
Wang et al.	2019	Revisão/Review	-
Xu et al.	2015	Artigo original/Original Article	-
Yang et al.	2017	Revisão/Review	-
Zhu et al.	2016	Ensaio Clínico/Clinical Trial	Blinatumomabe

3.1 DESENVOLVIMENTO E CARACTERÍSTICAS DOS ANTICORPOS MONOCLONAIS

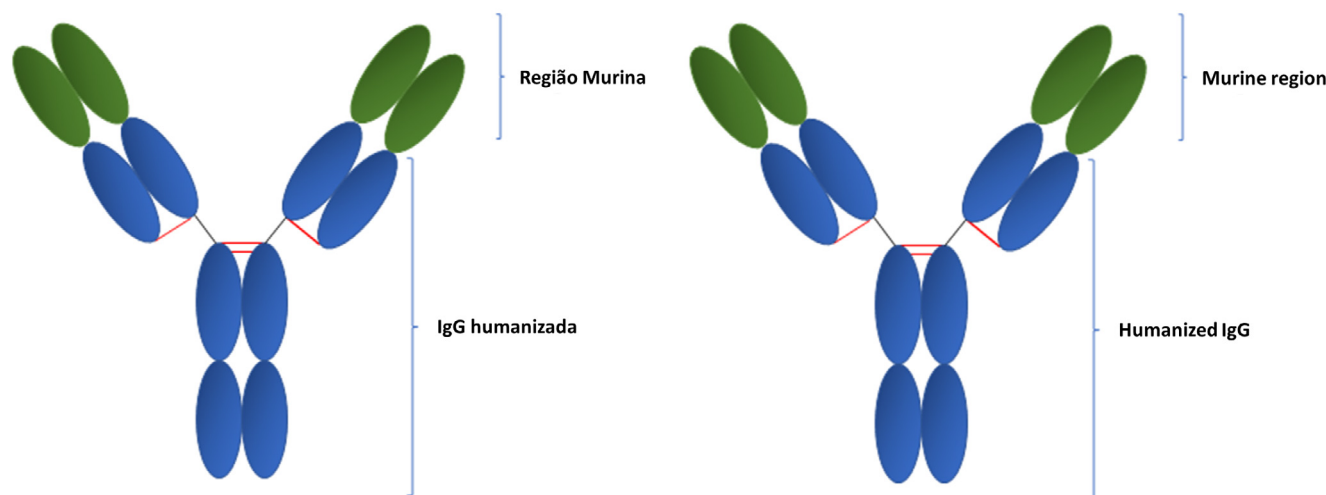
A imunoterapia é a nova fronteira no tratamento do câncer, desafiando as visões tradicionais em relação ao tratamento da malignidade. Ela abrange o tratamento com inibidores do ponto de checagem imunológico (*check point*), anticorpos monoclonais (MAbs), células T de recetor quimérico de antígeno (CAR-T) e BsAbs (Longhitano *et al.*, 2021). O uso de MAbs (Fig. 3) já se tornou uma estratégia consolidada no tratamento

3.1 DEVELOPMENT AND CHARACTERISTICS OF MONOCLONAL ANTIBODIES

Immunotherapy is the new frontier in cancer treatment, challenging traditional views regarding the treatment of malignancy. It covers treatment with immune checkpoint inhibitors, monoclonal antibodies (MAbs), chimeric antigen receptor T cells (CAR-T) and BsAbs (Longhitano *et al.*, 2021). The MAbs use (Fig. 3) has already become an established strategy in cancer treatment. These have the function of specifically

contra o câncer. Estes têm como função reconhecer de forma específica uma proteína de interesse com intuito de bloquear sua interação com outra proteína ou recrutar células do sistema imune para auxiliar no combate do tumor (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022).

recognizing an interesting protein with the aim of blocking its interaction with another protein or recruiting the immune system cells to help combat the tumor (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022).



Figura/Figure 3: Rituximabe, um anticorpo monoclonal quimérico híbrido entre humanos camundongos (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022)/Rituximab, a human-mouse hybrid chimeric monoclonal antibody (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022).

No entanto, apesar de serem amplamente utilizados para imunoterapia e diagnóstico de câncer (Hasanzadeh *et al.*, 2018; Alibakhshi *et al.*, 2017), os MAbs não foram tão eficazes quanto se esperava que fossem. Estratégias de tratamento clínico do câncer usando terapia monoespecífica sofrem algumas desvantagens, incluindo um grande número de pacientes com má resposta ao tratamento, e indivíduos que desenvolvem resistência à terapia, sofrendo recidiva tumoral (Hasanzadeh *et al.*, 2018). A fim de aperfeiçoar essa terapia e aumentar o número de interações de uma única molécula, novos desenhos de moléculas derivadas de anticorpos foram criados. Baseados em MAbs, os BsAbs foram desenvolvidos para superar estas desvantagens (Hosseini *et al.*, 2021).

A pesquisa e o desenvolvimento de moléculas biespecíficas gerou novas perspectivas no campo do tratamento com anticorpos ao ampliar a gama de alvos biológicos para a molécula de imunoglobulina (Ig). Esta é uma grande vantagem, tendo em vista que as doenças são, em sua maioria, multifatoriais com o envolvimento de diferentes vias de sinalização. A dupla especificidade também permitiu a mobilização de células específicas do sistema imunológico e o seu direcionamento ao alvo desejado (Fan *et al.*, 2015). Além disso, a especificidade para células patogênicas pode ser aumentada pela ligação não apenas a um, mas a dois antígenos diferentes na superfície da célula-alvo (Tiller & Tessier, 2015).

As moléculas dos BsAbs são desenvolvidas artificialmente e podem ligar-se a dois alvos diferentes simultaneamente, combinando dois locais diferentes de ligação ao antígeno em uma única molécula. Em um dos sítios há o reconhecimento da célula tumoral e, no outro, a ligação aos linfócitos, estimulando o sistema imunológico a atacar a doença em conjunto (Wang *et al.*, 2019), promovendo ativação da destruição citotóxica imunomediada do tumor (Kantarjian *et al.*, 2017; Longhitano *et al.*, 2021).

However, despite being widely used for immunotherapy and cancer diagnosis (Hasanzadeh *et al.*, 2018; Alibakhshi *et al.*, 2017), MAbs were not as effective as they were expected to be. Clinical cancer treatment strategies using monospecific therapy suffer from some disadvantages, including many patients with poor response to treatment, and individuals who develop resistance to therapy, suffering tumor recurrence (Hasanzadeh *et al.*, 2018). In order to improve this therapy and increase the single-molecule interactions number, new designs of antibody-derived molecules have been created. Based on MAbs, BsAbs were developed to overcome these disadvantages (Hosseini *et al.*, 2021).

The bispecific molecules research and development has generated new perspectives in the antibody treatment field by expanding the biological targets range for the immunoglobulin (Ig) molecule. This is a great advantage, considering that diseases are, for the most part, multifactorial with the involvement of different signaling pathways. Dual specificity also allowed the mobilization of specific immune system cells and their targeting to the desired target (Fan *et al.*, 2015). Furthermore, specificity for pathogenic cells can be increased by binding to not just one, but two different antigens on the target cell surface (Tiller & Tessier, 2015).

BsAbs molecules are artificially developed and can bind to two different targets simultaneously, combining two different antigen-binding sites into a single molecule. In one of the sites there is recognition of the tumor cell and, in the other, the connection to lymphocytes, stimulating the immune system to attack the disease together (Wang *et al.*, 2019), promoting activation of immune-mediated cytotoxic tumor destruction (Kantarjian *et al.*, 2017; Longhitano *et al.*, 2021).

Most BsAbs in preclinical studies and clinical investigations use an anti-CD3 antibody fragment (specifically CD3ε) as the

al., 2021).

A maioria dos BsAbs em estudos pré-clínicos e investigações clínicas usam um fragmento de anticorpo anti-CD3 (especificamente CD3 ϵ) como braço de envolvimento de células T. Como componente do complexo recetor de células T (TCR), o envolvimento de CD3 por um BsAbs medeia a formação de sinapses citolíticas entre células T e células tumorais que se assemelham a células de sinapses imunológicas formadas pela interação do TCR com um peptídeo apresentado por uma molécula do complexo principal de histocompatibilidade classe I ou II (Rader, 2020). Apesar de o conceito ser simples, na prática há numerosos fatores moleculares e celulares que devem ser levados em consideração: a formação eficiente de sinapses citolíticas, que é influenciada pela afinidade e interação de ambos os braços do BsAbs com o epítipo, assim como a densidade e fluidez de seus respetivos alvos em Células T e células tumorais (Clynes & Desjarlais, 2019; Rader, 2020).

Inicialmente, os BsAbs foram gerados pela conjugação química de dois anticorpos monoclonais purificados diferentes ou pela fusão de dois hibridomas, resultando em uma linhagem celular de quadroma produzindo, entre outros, moléculas biespecíficas de IgG (Brinkmann & Kontermann, 2017). Ao longo das últimas duas décadas, a engenharia genética resultou numa gama de formatos de BsAbs recombinantes, com mais de 50 formatos diferentes agora disponíveis. A aplicação de *design* molecular sofisticado e engenharia genética resolveu muitos dos problemas técnicos associados à formação de BsAbs, como estabilidade, solubilidade e outros parâmetros que conferem propriedades ao medicamento. Isso revolucionou o desenvolvimento do BsAbs para aplicações terapêuticas e diagnósticas, permitindo que os pesquisadores ajustem o tamanho, a valência, a flexibilidade, a meia-vida e a biodistribuição do BsAbs para se adequarem ao perfil de produto-alvo desejado (Kontermann & Brinkmann, 2015). Antigamente, três técnicas eram utilizadas para a criação de moléculas biespecíficas: ativador de células T (BiTE), proteínas de redireccionamento de dupla afinidade (DARTs) e tandem *diabodies* (TandAbs) (Wang *et al.*, 2019). Atualmente, os BsAbs são criados por *orthogonal Fab interface*, *DuoBody*, *XmAb*, *CrossMab* e *knobs-into-holes* (KiH) (Fig. 4) (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022).

Os BsAbs foram descritos pela primeira vez por Nisonoff e colaboradores há mais de 60 anos. No entanto, levou mais de 20 anos, juntamente com a introdução da técnica do hibridoma, para estabelecer o primeiro BsAbs monoclonal (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022). Em 1985, Staerze Bevan apresentaram o conceito de usar tais BsAbs para envolver células T citotóxicas para lise de células cancerígenas (Viardot & Bargou, 2018). Entretanto, obstáculos técnicos inicialmente dificultaram o desenvolvimento. Os primeiros BsAbs pareciam moléculas normais de imunoglobulina G (IgG), mas tinham seus dois braços de ligação equipados com especificidades de ligação distintas. Porém, as tecnologias em rápida evolução que permitiram a engenharia, produção e desenvolvimento de derivados de proteínas recombinantes, combinadas com o interesse renovado da indústria farmacêutica, deram início ao campo de pesquisa dos BsAbs. Hoje, muitos formatos diferentes de BsAbs adequados para o desenvolvimento de proteínas terapêuticas estão disponíveis (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022).

T-cell engagement arm. As a component of the T-cell receptor (TCR) complex, CD3 engagement by a BsAbs mediate the formation of cytolytic synapses between T cells and tumor cells that resemble immunological synapse cells formed by the interaction of the TCR with a peptide presented by a major histocompatibility complex class I or II molecule (Rader, 2020). Although the concept is simple, in practice there are numerous molecular and cellular factors that must be taken into consideration: the efficient formation of cytolytic synapses, which is influenced by the affinity and interaction of both arms of the BsAbs with the epitope, as well as the density and fluidity of their respective targets in T cells and tumor cells (Clynes & Desjarlais, 2019; Rader, 2020).

Initially, BsAbs were generated by the chemical conjugation of two different purified monoclonal antibodies or by the fusion of two hybridomas, resulting in a quadroma cell line producing, among others, bispecific IgG molecules (Brinkmann & Kontermann, 2017). Over the past two decades, genetic engineering has resulted in a range of recombinant BsAb formats, with more than 50 different formats now available. The application of sophisticated molecular design and genetic engineering has resolved many of the technical problems associated with the BsAbs formation, such as stability, solubility, and other parameters that impact drug properties. This has revolutionized the BsAbs development for therapeutic and diagnostic applications, allowing researchers to tune the size, valence, flexibility, half-life, and biodistribution of BsAbs to suit the desired target product profile (Kontermann & Brinkmann, 2015). Previously, three techniques were used to create bispecific molecules: T cell activator (BiTE), dual affinity redirection proteins (DARTs) and tandem diabodies (TandAbs) (Wang *et al.*, 2019). Currently, BsAbs are created by orthogonal Fab interface, DuoBody, XmAb, CrossMab and knobs-into-holes (KiH) (Fig. 4) (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022).

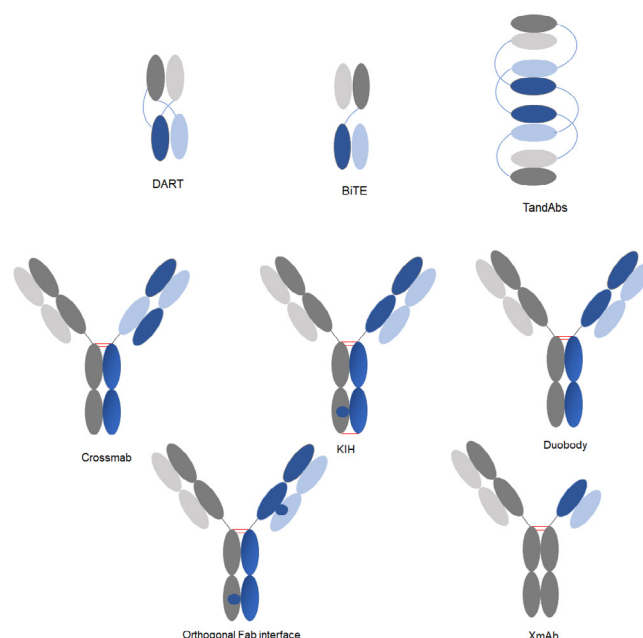
BsAbs were first described by Nisonoff and colleagues more than 60 years ago. However, it took more than 20 years, along with the hybridoma technique introduction, to establish the first monoclonal BsAbs (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022). In 1985, Staerze Bevan presented the concept of using such BsAbs to engage cytotoxic T cells to lyse cancer cells (Viardot & Bargou, 2018). However, technical obstacles initially hampered development. The first BsAbs looked like normal immunoglobulin G (IgG) molecules but had their two binding arms equipped with distinct binding specificities. Nevertheless, rapidly evolving technologies that have enabled the engineering, production, and development of recombinant protein derivatives, combined with renewed interest from the pharmaceutical industry, have ushered in BsAbs research field. Today, many different formats of BsAbs suitable for the therapeutic proteins' development are available (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022).

Despite having been described more than 60 years ago, BsAbs gained clinical relevance after the first approval, in 2014, by the Food and Drug Administration (FDA), of Blinatumomab (Blinicyto®), BsAbs indicated for acute lymphoblastic leukemia treatment (Labrijn *et al.*, 2019). Since then, these molecules have become an attractive option to treat some types of cancer and hematological malignancies, due to their safety and efficacy profile (Viardot & Bargou, 2018). Currently, an

Apesar de terem sido descritos há mais de 60 anos, os BsAbs ganharam relevância clínica após a primeira aprovação, em 2014, pela *Food and Drug Administration* (FDA), do Blinatumomab (Blinicyto[®]), BsAbs com indicação para o tratamento de leucemia linfoblástica aguda (Labrijn *et al.*, 2019). Desde então, essas moléculas tornaram-se uma opção atraente para tratar alguns tipos de câncer e neoplasias hematológicas, em virtude do seu perfil de segurança e eficácia (Viardot & Bargou, 2018). Atualmente, um número importante de BsAbs está sendo estudado em muitos ensaios clínicos, mostrando resultados positivos em um grupo específico de células tumorais e uma resposta a ação antitumoral prolongada.

important number of BsAbs are being studied in many clinical trials, showing positive results on a specific group of tumor cells and a response to prolonged antitumor action.

Some hematological diseases, such as lymphomas, appear to have a better antitumor response with treatment using BsAbs, compared to myeloid neoplasms or solid tumors (Duell *et al.*, 2019). Furthermore, the new clinical trials number evaluating new drugs for BsAbs has been steadily increasing with an annual rate of 20.44%. Of particular importance, we observed a similar number of trials targeting solid tumors compared to those targeting hematologic malignancies. However, more than 93.5% of trials are still in phase I or II (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022).



Figura/Figure 4: Estruturas de BsAbs atualmente aprovados ou em ensaios clínicos (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022)/Structures of BsAbs currently approved or in clinical trials (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022).

Algumas doenças hematológicas, como linfomas, parecem ter uma melhor resposta antitumoral com o tratamento através de BsAbs, em comparação com neoplasias mieloides ou tumores sólidos (Duell *et al.*, 2019). Além disso, o número de novos ensaios clínicos que avaliam novos medicamentos para o BsAbs tem aumentado continuamente com uma taxa anual de 20,44%. De particular importância, observou-se um número semelhante de ensaios direcionados a tumores sólidos em comparação com aqueles direcionados a neoplasias hematológicas. No entanto, mais de 93,5% dos ensaios ainda estão em fase I ou II (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022).

Há evidências crescentes sobre o uso de BsAbs em neoplasias hematológicas, uma vez que a maioria delas cumpre com duas características importantes para uma terapia eficaz de BsAbs. A primeira é que antígenos de neoplasias hematológicas são principalmente (ou apenas) expressos em células malignas, levando a uma redução de *on-target/off* toxicidade do câncer. A segunda é que o antígeno está fortemente associado ao fenótipo de tumor maligno, levando a uma redução das variantes de perda de antígeno (Yang *et al.*, 2017).

De acordo com o princípio anterior, a abordagem dos

There is increasing evidence on the BsAbs use in hematological malignancies, as most of them fulfill two important characteristics for effective BsAb therapy. The first is that antigens from hematological malignancies are mainly (or only) expressed on malignant cells, leading to a reduction in on-target/off cancer toxicity. The second is that the antigen is strongly associated with the malignant tumor phenotype, leading to a reduction in antigen-loss variants (Yang *et al.*, 2017).

According to the previous principle, the BsAbs approach focuses on targeting CD3 on T cells (CD3ε fragment) and an antigen commonly expressed on tumor cells. For B cell malignancies, for example, some BsAbs target CD19 and CD20. CD19 persists throughout the course of B cell development. This overexpressed target allows lysis of malignant cells and prevents attack by normal lymphocytes (Velasquez *et al.*, 2018).

Although considered an advance in hematological cancers' treatment, the immunotherapies used with BsAbs have notable side effects, including cytokine release syndrome. This systemic inflammatory response, which correlates with T cell activation and cytokines high levels, has been documented since the early 1990s following several antibody-based therapies used

BsAbs foca no direcionamento CD3 em células T (fragmento CD3ε) e um antígeno comumente expresso em células tumorais. Para malignidades de células B, por exemplo, alguns BsAbs têm como alvo CD19 e CD20. CD19 persiste todo o curso do desenvolvimento da célula B. Este alvo superexpresso permite a lise de células malignas e evita o ataque dos linfócitos normais (Velasquez *et al.*, 2018).

Embora considerado um avanço no tratamento de câncer hematológicos, o uso de imunoterapias com BsAbs possui efeitos colaterais notáveis, incluindo síndrome de liberação de citocinas. Essa resposta inflamatória sistêmica, que se correlaciona com a ativação de células T e altos níveis de citocinas, foi documentado desde o início da década de 1990, após o uso de várias terapias baseadas em anticorpos (Duell *et al.*, 2019). Outros efeitos colaterais comuns a este tipo de tratamento estão os sintomas de neurotoxicidade que incluem dor de cabeça, tremor, confusão, desorientação e outros mais perigosos como convulsões ou estupor (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022). Além disso, vale ressaltar o alto custo dessa terapia, podendo ser reconhecido este como um fator limitante ao seu acesso, especialmente em países subdesenvolvidos.

3.2 MECANISMO DE AÇÃO DOS BSABS

Os anticorpos são moléculas feitas de diferentes partes estruturais e funcionais. Essas partes são combinadas para criar moléculas com afinidade, especificidade e interações únicas (Goulet & Atkins, 2020). Os BsAbs são projetados para alcançar diferentes funções através múltiplos mecanismos de ação, únicos ou múltiplos: unindo células tumorais e células imunes com citotoxicidade redirecionada, bloqueando dois alvos para inibir o crescimento do tumor, promovendo funções de células imunes ou facilitando a formação de complexos proteicos (Wang *et al.*, 2021).

Os mecanismos de ação são diversos. Primeiro, o processo de ligação de células imunes com células tumorais leva à supressão da capacidade das células malignas de escapar da resposta imune. Em segundo lugar, os BsAbs diminuem a expressão de certas moléculas e a liberação de mediadores de supressão. Além disso, os BsAbs também bloqueiam alvos como LAG-3, TNF-α, PD1, IL-23, CTLA-4, dentre outros e, também, estimulam as células imunes. Esses mecanismos agem sinergicamente (Wang *et al.*, 2021; Ma *et al.*, 2021).

A agência reguladora norte-americana, FDA, agrupou os BsAbs em duas classes principais, com base em seu mecanismo de ação: BsAbs de ponte celular e BsAbs de *crosslinking*-antígeno (moléculas sem ponte celular) (Labrijn *et al.*, 2019). A maioria dos BsAbs de ponte celular são projetados para tratamento de câncer, ligando células imunes às células malignas. Através da ligação sequencial, ou seja, ligando-se primeiro à célula cancerígena devido a uma maior afinidade com antígenos tumorais, os BsAbs de ponte celular podem melhorar a especificidade e a eficácia com efeitos colaterais inespecíficos reduzidos e dosagem mais baixa em comparação com mAbs (Wang *et al.*, 2021).

Em contraste, os BsAbs de *crosslinking*-antígeno têm como alvos dois antígenos ou dois receptores simultaneamente. Seu principal mecanismo de ação é bloqueando sinais de crescimento/sobrevivência celular ou ativação de células

(Duell *et al.*, 2019). Other common side effects to this type of treatment are neurotoxicity symptoms that include headache, tremor, confusion, disorientation, and other more dangerous ones such as convulsions or stupor (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022). Furthermore, it is worth highlighting the high cost of this therapy, which can be recognized as a limiting factor in its access, especially in underdeveloped countries.

3.2 BSAB ACTION MECHANISM

Antibodies are molecules made up of different structural and functional parts. These parts are combined to create molecules with unique affinity, specificity, and interactions (Goulet & Atkins, 2020). BsAbs are designed to achieve different functions through multiple mechanisms of action, single or multiple: bridging tumor cells and immune cells with redirected cytotoxicity, blocking two targets to inhibit tumor growth, promoting immune cell functions, or facilitating the protein complexes formation (Wang *et al.*, 2021).

The mechanisms of action are diverse. First, the immune cells to tumor cells binding process leads to the suppression of the ability of malignant cells to escape the immune response. Second, BsAbs decrease the expression of certain molecules and the suppressive mediator's release. Furthermore, BsAbs also block targets such as LAG-3, TNF-α, PD1, IL-23, CTLA-4, among others, and stimulate immune cells. These mechanisms act synergistically (Wang *et al.*, 2021; Ma *et al.*, 2021).

The North American regulatory agency, FDA, has grouped BsAbs into two main classes, based on their action mechanism: cell-bridging BsAbs and antigen-cross linking BsAbs (molecules without cell bridging) (Labrijn *et al.*, 2019). Most cell bridging BsAbs are designed for cancer treatment by linking immune cells to malignant cells. Through sequential binding, i.e., binding first to the cancer cell due to a higher affinity to tumor antigens, cell bridging BsAbs can improve specificity and efficacy with reduced nonspecific side effects and lower dosage compared to mAbs (Wang *et al.*, 2021).

In contrast, antigen cross linking BsAbs target two antigens or two receptors simultaneously. Its main mechanism of action is by blocking cell growth/survival signals or activation of immune cells. Antigen-cross linking BsAbs basically act like mAbs, except they bind to two different targets (Wang *et al.*, 2021).

3.3 BSABS IN HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES

Table 2 presents the main BsAbs used in hematological malignancies, their indication and the approval year by the aforementioned regulatory bodies. The BsAbs most used in hematological malignancies currently is Blinatumomab (Blincto[®]), with anti-CD19/anti-CD3 action indicated in the B-lineage malignant hematological neoplasm treatment. It was designed to bind transiently to T lymphocytes memory cytotoxic agents and exclude malignant B cells, which uniformly express CD19 (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022). This antibody was produced from two scFv fragments combined into a protein chain. While one of the scFv fragments is bound to the antigen on the tumor surface, the other interacts with the T cell by binding to CD3 (Duell *et al.*, 2019).

Blinatumomab induces a cytolytic synapse formation and

imunes. Os BsAbs de *crosslinking*-antígeno basicamente agem semelhantes aos mAbs, exceto que eles se ligam a dois alvos diferentes (Wang *et al.*, 2021).

3.3 BSABS EM NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

Na tabela 2 foram apresentados os principais BsAbs utilizados em neoplasias hematológicas, a sua indicação e o ano de aprovação pelos órgãos reguladores mencionados. O BsAbs mais utilizado em neoplasias hematológicas, atualmente, é o Blinatumomabe (Blinicyto®), com ação anti-CD19/anti-CD3 indicado no tratamento de neoplasias hematológicas malignas de linhagem B. Foi projetado para ligar-se de maneira transitória aos linfócitos T citotóxicos de memória e excluir as células B malignas, que expressam uniformemente CD19 (Ordóñez-Reyes *et al.*, 2022). Este anticorpo foi produzido a partir de dois fragmentos scFv combinados em uma cadeia de proteína. Enquanto um dos fragmentos scFv fica ligado ao antígeno na superfície do tumor, o outro interage com a célula T através da ligação ao CD3 (Duell *et al.*, 2019).

activates T cells without requiring costimulatory molecules. There is a continuous reload of granzymes resulting in a continuous attack on tumor cells without T cell apoptosis. Blinatumomab leads to an expansion of CD8 positive T cells, dominated by cytotoxic CD8+ T effector memory (Viardot & Bargou, 2018).

Even though it is a small molecule, measuring approximately 55 kDa, Blinatumomab is a potent tumor cytotoxic agent, even at low concentrations. However, its half-life is less than 2 hours, so continuous intravenous infusion is required, demanding the patient to be hospitalized to carry out the treatment for several days, over numerous cycles, as recommended in clinical and therapeutic guidelines, illustrating some of the challenges encountered for antibodies free from the Fc portion (Fan *et al.*, 2015; Elgundi *et al.*, 2017).

This new drug story began in 2014 when it was approved for relapsed or refractory B-cell precursor Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in adults. Later in 2016, the FDA approved the use of Blinatumomab

Tabela/Table 2: Principais BsAbs utilizado em neoplasias hematológicas/Main BsAbs used in hematological malignancies.

Nome Comercial/ Trade name	BsAbs	Tecnologia de Produção/ Manufacturing Technology	Alvo/Target	Indicação/ Indication	Ano de Aprovação/Approval Year		
					FDA	EMA	ANVISA
Blinicyto®	Blinatumomabe	Ativador de células T (BiTE)	anti-CD19/anti-CD3/ anti-CD19/anti-CD3	Leucemia linfoblástica aguda/Acute lymphoblastic leukemia	2014	2015	2017
Lunsumio®	Mosunetuzumabe	Knobs-into-holes (KiH)	células T CD20/CD3/ CD20/CD3 T cells	Linfoma folicular/ Follicular lymphoma	2022	2022	-
Tecvayli®	Teclistamab	DuoBody	BCMA nas células do mieloma e o CD3 na superfície das células T/BCMA on myeloma cells and CD3 on T cells surface	Mieloma múltiplo/ Multiple myeloma	2022	2022	2023

O Blinatumomabe induz a formação de uma sinapse citolítica e ativa células T sem necessitar de moléculas coestimuladoras. Há uma recarga contínua de granzimas resultando em um ataque contínuo nas células tumorais sem apoptose de células T. O Blinatumomabe leva a uma expansão de células T CD8 positivas, dominadas pela memória efetora T CD8+ citotóxica (Viardot & Bargou, 2018).

Mesmo sendo uma molécula pequena, com aproximadamente 55 kDa, o Blinatumomabe é um potente agente citotóxico tumoral, mesmo em baixas concentrações. No entanto, sua meia-vida é inferior a 2 horas, de modo que a infusão intravenosa contínua é exigida, sendo necessária a internação do paciente para a realização do tratamento por vários dias, ao longo de inúmeros ciclos, conforme preconizado em protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas, ilustrando um pouco dos desafios encontrados para os anticorpos isentos da porção Fc (Fan *et al.*, 2015; Elgundi *et al.*, 2017).

A história deste novo medicamento começou em 2014 quando foi aprovado para leucemia linfoblástica aguda com cromossoma Filadélfia negativo recidivante ou refratário precursora de células B em adultos. Mais tarde, em 2016, a FDA

for pediatric patients with the same diagnosis (Duell *et al.*, 2019). Then, the FDA, in 2018, and the EMA, in 2019, in the European Union, approved its use for adults and children with pre-precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia treatment in first or second complete remission with minimal residual disease. These approvals are milestones that highlighted the therapeutic utility of BsAbs (Gokbuget *et al.*, 2018; Curran & Stock, 2019; Jen *et al.*, 2019).

For acute lymphoblastic leukemia, several phase II trials were carried out with Blinatumomab: for positive minimal residual disease, achieving around 80% molecular remission (Gökbuget *et al.*, 2018); with relapsed or refractory Philadelphia chromosome negative, the complete remission/with partial hematologic recovery/with incomplete hematologic recovery rate was approximately 44% (Topp *et al.*, 2015); with relapsed or refractory Philadelphia chromosome positive response was relatively low (36%) (Martinelli *et al.*, 2017). In the pediatric acute lymphoblastic leukemia study, the complete remission/partial hematologic recovery/incomplete hematologic recovery rate occurred in 56% of patients, whereas it was 33% in patients with bone marrow blasts (Von Stackelberg *et al.*, 2016).

aprovou o uso do Blinatumomabe para pacientes pediátricos com o mesmo diagnóstico (Duell *et al.*, 2019). Em seguida, a FDA, em 2018, e a EMA, em 2019, na União Europeia, aprovaram o seu uso no tratamento de adultos e crianças com leucemia linfoblástica aguda pré-precursora de células B em primeira ou segunda remissão completa com doença residual mínima. Estas aprovações são marcos que destacaram a utilidade terapêutica dos BsAbs (Gokbuget *et al.*, 2018; Curran & Stock, 2019; Jen *et al.*, 2019).

Para leucemia linfoblástica aguda, vários ensaios de fase II foram realizados com o Blinatumomabe: para doença residual mínima positiva, alcançando em torno de 80% de remissão molecular (Gökbuget *et al.*, 2018); com cromossoma Filadélfia negativo recidivante ou refratário, a taxa de remissão completa/com recuperação hematológica parcial/com recuperação hematológica incompleta foi aproximadamente 44% (Topp *et al.*, 2015); com cromossoma Filadélfia positivo recidivante ou refratário, a resposta foi relativamente baixa (36%) (Martinelli *et al.*, 2017). No estudo de leucemia linfoblástica aguda pediátrica, a taxa de remissão completa/com recuperação hematológica parcial/com recuperação hematológica incompleta ocorreu em 56% dos pacientes, considerando que foi de 33% em pacientes com blastos na medula óssea (Von Stackelberg *et al.*, 2016).

No Brasil, em abril de 2017, o uso de Blinatumomabe foi aprovado pela ANVISA no tratamento da leucemia linfoblástica aguda de linhagem B recidivada ou refratária, com cromossomo Philadelphia negativo, em adultos. Em 2018, a ANVISA aprovou a sua utilização para o tratamento dos pacientes que possuem o cromossomo Philadelphia positivo (Anvisa, 2017). Cerca de 25% dos pacientes adultos com leucemia linfoblástica aguda apresentam essa anormalidade genética conhecida como “cromossomo Philadelphia”, que caracteriza uma doença mais agressiva e de pior prognóstico. Esse defeito genético resulta em um gene responsável pela produção de uma proteína que, por sua vez, origina uma enzima com atividade de tirosina-quinase (Martinelli *et al.*, 2017; Soverini *et al.*, 2019). Com essa aprovação, o medicamento pode ser utilizado, portanto, no tratamento da leucemia linfoblástica aguda de linhagem B recidivada ou refratária em adultos, independente do *status* do cromossomo Philadelphia (Martinelli *et al.*, 2021). Já em 2019, o Blinatumomabe passou a ser aprovado para o tratamento da leucemia linfoblástica aguda de células B em adultos com doença residual mínima positiva que já atingiram remissão completa (Anvisa, 2019).

Outro BsAbs que foi desenvolvido para utilizar em neoplasias hematológicas é o Mosunetuzumabe (Lunsumio®) um anticorpo biespecífico anti-células T CD20/CD3. Na União Europeia, ele foi recentemente aprovado condicionalmente para o tratamento de linfoma folicular recidivante ou refratário em adultos que receberam pelo menos duas terapias sistêmicas anteriores (Kang, 2022). Em dezembro de 2022, a FDA aprovou o uso do Mosunetuzumabe no tratamento de pacientes com linfoma folicular após duas linhas prévias de terapia (Lopedote & Shadman, 2023). Embora tenha apresentado resultados promissores e estando aprovado por outras agências reguladoras para o uso do tratamento de linfoma folicular recidivante ou refratário em adultos, no Brasil o Mosunetuzumabe ainda não foi aprovado pela ANVISA.

In Brazil, in April 2017, the Blinatumomab use was approved by ANVISA in the relapsed or refractory B-lineage acute lymphoblastic leukemia treatment, with negative Philadelphia chromosome, in adults. In 2018, ANVISA approved its use for the patients who have the positive Philadelphia chromosome treatment (Anvisa, 2017). Around 25% of adult patients with acute lymphoblastic leukemia have this genetic abnormality known as the “Philadelphia chromosome”, which characterizes a more aggressive disease with a worse prognosis. This genetic defect results in a gene responsible to produce a protein that, in turn, originates from an enzyme with tyrosine kinase activity (Martinelli *et al.*, 2017; Soverini *et al.*, 2019). With this approval, the drug can therefore be used in the relapsed or refractory B-lineage acute lymphoblastic leukemia treatment in adults, regardless of Philadelphia chromosome status (Martinelli *et al.*, 2021). In 2019, Blinatumomab became approved for the B-cell acute lymphoblastic leukemia treatment in adults with positive minimal residual disease who have already achieved complete remission (Anvisa, 2019).

Another BsAb that was developed for use in hematological malignancies is Mosunetuzumab (Lunsumio®), a bispecific anti-CD20/CD3 T cell antibody. In the European Union, it was recently conditionally approved for the relapsed or refractory follicular lymphoma treatment in adults who have received at least two prior systemic therapies (Kang, 2022). In December 2022, the FDA approved the Mosunetuzumab in the patients with follicular lymphoma treatment after two previous lines of therapy (Lopedote & Shadman, 2023). Although it has shown promising results and is approved by other regulatory agencies for the relapsed or refractory follicular lymphoma treatment in adults, Mosunetuzumabe has not yet been approved by ANVISA in Brazil.

Mosunetuzumab is a humanized IgG antibody consisting of two antigen-binding Fab arms, specific for the CD3 and CD20 antigens, both linked to an Fc fragment (Sun *et al.*, 2015). The binding of these targets redirects CD8+ T cells to tumor cells, facilitating their cytotoxic action. Although this approach is similar to the Blinatumomab BsAbs, the latter consists of two single-chain antibodies fused into a single polypeptide chain, without a typical Fc region (Zhu *et al.*, 2016). On the other hand, Mosunetuzumab was generated using a new molecular format, known as knobs-into-holes, allowing the creation of distinct Fab arms without affecting the IgG structure (Lopedote & Shadman, 2023). These differences result in diverse pharmacokinetics, including a longer half-life, which does not require continuous infusion (Ferl *et al.*, 2018). Therefore, Mosunetuzumab is a promising option with a favorable toxic profile, which appears to be effective in patients with aggressive follicular lymphoma and may avoid some classic side effects (Buske, 2022; Lopedote & Shadman, 2023).

The multicenter phase II study of Mosunetuzumab was carried out with 90 patients in 49 centers, in seven countries (Australia, Canada, Germany, South Korea, Spain, United Kingdom and USA). Patients participating in the study had disease that had relapsed or was refractory to two or more prior lines of treatment, including an anti-CD20 therapy and an alkylating agent. Intravenous Mosunetuzumab was administered in 21-day cycles with dosing escalated across cycles. Those patients who showed a complete response

O Mosunetuzumabe é um anticorpo IgG humanizado que consiste em dois braços Fab de ligação ao antígeno, específico tanto para o antígeno CD3 como para o CD20, ambos ligados a um fragmento Fc (Sun *et al.*, 2015). A ligação desses alvos redireciona as células T CD8+ para as células tumorais, facilitando sua ação citotóxica. Embora essa abordagem seja semelhante à do BsAbs Blinatumomabe, o último consiste em dois anticorpos de cadeia única fundidos em uma única cadeia polipeptídica, sem uma região Fc típica (Zhu *et al.*, 2016). Por outro lado, Mosunetuzumabe foi gerado usando um novo formato molecular, conhecido como *knobs-into-holes*, permitindo criar braços Fab distintos sem afetar a estrutura de IgG (Lopedote & Shadman, 2023). Essas diferenças resultam em uma farmacocinética diversa, incluindo uma meia-vida mais longa, o que não requer infusão contínua (Ferl *et al.*, 2018). Por isso, Mosunetuzumabe é uma opção promissora com um perfil tóxico favorável, que parece ser eficaz em pacientes com linfoma folicular agressivo, podendo evitar alguns efeitos colaterais clássicos (Buske, 2022; Lopedote & Shadman, 2023).

O estudo multicêntrico de fase II do Mosunetuzumabe foi realizado com 90 pacientes em 49 centros, em sete países (Austrália, Canadá, Alemanha, Coreia do Sul, Espanha, Reino Unido e EUA). Os pacientes que participaram do estudo tiveram doença recidivante ou refratária a duas ou mais linhas de tratamento anteriores, incluindo uma terapia anti-CD20 e um agente alquilante. Mosunetuzumabe intravenoso foi administrado em ciclos de 21 dias com dosagem intensificada ao longo dos ciclos. Aqueles pacientes que apresentaram uma resposta completa concluíram a terapia após o ciclo 8, enquanto os que apresentaram resposta parcial ou doença estável, continuaram tratamento por até 17 ciclos. De acordo com o estudo, a resposta completa foi registrada em 54 pacientes (Budde *et al.*, 2022). Comparando com o estudo de fase II do Copanlisib, um inibidor enzimático PI3K utilizado no tratamento de linfoma folicular, a taxa de resposta completa observada obtida com o tratamento com o Mosunetuzumabe foi significativamente maior do que a obtida com o controle histórico de Copanlisib (Dreyling *et al.*, 2017; Budde *et al.*, 2022).

Para o tratamento do mieloma múltiplo, o Teclistamab (Tecvayli®) é um BsAbs desenvolvido para reconhecer e se ligar simultaneamente a dois alvos: o antígeno de maturação das células B (BCMA) nas células do mieloma e o CD3 na superfície das células T (células do sistema imunológico). Ao se ligar a essas proteínas-alvo, esse medicamento envolve células cancerígenas e células T, levando à ativação das células T e à lise das células do mieloma, eliminando assim as células do mieloma múltiplo (Usmani *et al.*, 2021; Moreau *et al.*, 2022; Hua *et al.*, 2023). Esse direcionamento ao BCMA é eficaz, pois está superexpresso e ativado no mieloma múltiplo, e é mediada pela secreção de perforina e certas granzimas de células T citotóxicas (Kleber *et al.*, 2021; Girgis *et al.*, 2022). Este processo é inespecífico e não envolve complexo principal de histocompatibilidade classe I em células apresentadoras de antígenos (Kang, 2022).

O estudo de fase I e II do Teclistamab foi realizado com pacientes que tiveram mieloma recidivante ou refratário, após no mínimo três linhas de terapia, sendo um medicamento imunomodulador, um inibidor de proteassoma e um anticorpo anti-CD38. Neste estudo, o Teclistamab teve atividade clínica substancial comparado com as terapias existentes em

after cycle 8 completed therapy, while those who showed a partial response or stable disease continued treatment for up to 17 cycles. According to the study, complete response was recorded in 54 patients (Budde *et al.*, 2022). Comparing with the phase II study of Copanlisib, a PI3K enzyme inhibitor used in the follicular lymphoma treatment, the observed complete response rate obtained with treatment with Mosunetuzumab was significantly higher than that obtained with the Copanlisib historical control (Dreyling *et al.*, 2017; Budde *et al.*, 2022).

For the multiple myeloma treatment, Teclistamab (Tecvyl®) is a BsAb developed to simultaneously recognize and bind to two targets: B cell maturation antigen (BCMA) on myeloma cells and CD3 on the T cells surface (immune system cells). By binding to these target proteins, this drug engages cancer cells and T cells, leading to activation of T cells and lysis of myeloma cells, thereby eliminating multiple myeloma cells (Usmani *et al.*, 2021; Moreau *et al.*, 2022; Hua *et al.*, 2023). This targeting of BCMA is effective because it is overexpressed and activated in multiple myeloma and is mediated by the performance and certain granzymes from cytotoxic T cells secretion (Kleber *et al.*, 2021; Girgis *et al.*, 2022). This process is nonspecific and does not involve major histocompatibility complex class I in antigen-presenting cells (Kang, 2022).

The Teclistamab phase I and II study was carried out with patients who had relapsed or refractory myeloma, after at least three lines of therapy, consisting of an immunomodulatory drug, a proteasome inhibitor and an anti-CD38 antibody. In this study, Teclistamab had substantial clinical activity compared with existing therapies in individuals with relapsed or refractory multiple myeloma. Among 165 patients who were treated with Teclistamab, 77.6% had triple-class refractory disease (median, five prior lines of therapy). With a median follow-up of 14 months, the overall response rate was 63.0%, with 65 patients (39.4%) achieving a complete response or better. A total of 44 patients (26.7%) had no minimal residual disease (Moreau *et al.*, 2022).

On August 24, 2022, the European regulatory agency, EMA, granted conditional authorization for the Teclistamab use in patients diagnosed with multiple myeloma in cases where they stopped responding to an immunomodulatory agent, a proteasome inhibitor, and a monoclonal antibody anti-CD38 (Pillarsetti *et al.*, 2020). Therefore, it was concluded by the EMA that the Teclistamab use benefits were greater than its risks, despite the lack of a comparator, the short duration of patients' follow-up in the main study and the small number of patients involved in this study (Moreau *et al.*, 2022) have limited the assessment of the benefits and risks associated with their use (Kang, 2022; EMA, 2022).

Subsequently, the FDA approved, in the United States of America, on October 25, 2022, the Teclistamab use in the relapsed or refractory multiple myeloma treatment in adults who have received at least four prior lines of therapy (including a proteasome inhibitor, an immunomodulator and an anti-CD38 monoclonal antibody) (Kang, 2022; FDA, 2022). In this sense, on March 23, 2023, ANVISA approved the Teclistamab use, in Brazil, for the relapsed or refractory multiple myeloma treatment, in patients who have received at least three previous therapies, including a proteasome inhibitor, an immunomodulator and

indivíduos com mieloma múltiplo refratário ou recidivado. Entre 165 pacientes que foram tratados com Teclistamab, 77,6% apresentaram doença refratária de classe tripla (mediana, cinco linhas de terapia anteriores). Com um acompanhamento médio de 14 meses, a taxa de resposta geral foi de 63,0%, com 65 pacientes (39,4%) foi obtida uma resposta completa ou melhor. Um total de 44 pacientes (26,7%) não apresentaram doença residual mínima (Moreau *et al.*, 2022).

Em 24 de agosto de 2022, a agência reguladora europeia, EMA, concedeu uma autorização condicional para o uso de Teclistamab em pacientes diagnosticados com mieloma múltiplo nos casos em que estes paravam de responder a um agente imunomodulador, um inibidor do proteassoma e um anticorpo monoclonal anti-CD38 (Pillarsetti *et al.*, 2020). Desse modo, foi concluído pela EMA que os benefícios do uso de Teclistamab foram superiores aos seus riscos, embora a falta de um comparador, a curta duração do seguimento dos doentes no estudo principal e o pequeno número de pacientes envolvidos neste estudo (Moreau *et al.*, 2022) tenham limitado a avaliação dos benefícios e dos riscos associados à sua utilização (Kang, 2022; EMA, 2022).

Posteriormente, a FDA aprovou, nos Estados Unidos da América, em 25 de outubro de 2022 o uso de Teclistamab no tratamento do mieloma múltiplo recidivado ou refratário em adultos que receberam pelo menos quatro linhas anteriores de terapia (incluindo um inibidor de proteassoma, um agente imunomodulador e um anticorpo monoclonal anti-CD38) (Kang, 2022; FDA, 2022). Nesse sentido, no dia 23 de março de 2023, a ANVISA aprovou o uso do Teclistamab, no Brasil, para o tratamento de mieloma múltiplo recidivado ou refratário, em pacientes que receberam pelo menos três terapias anteriores, incluindo um inibidor de proteassoma, um agente imunomodulador e um anticorpo monoclonal anti-CD38. Este tornou-se o primeiro anticorpo biespecífico aprovado no Brasil para o tratamento do mieloma múltiplo (ANVISA, 2023).

4. CONCLUSÕES

Os BsAbs podem redirecionar as células do sistema imune, estimulando e integrando um novo tipo de resposta terapêutica, demonstrando ser uma alternativa inovadora em imunoterapia e uma opção de vanguarda que combina a engenharia da biologia molecular e a atividade biológica do sistema imunológico. Recrutar o sistema imunológico na luta contra o câncer tem grande potencial, com sucesso já observado no tratamento de neoplasias hematológicas. Os BsAbs representam uma visão mais individual e um tratamento específico para pacientes com câncer, proporcionando um ataque “personalizado” as células de tumores malignos, superando algumas das limitações de abordagens dos mAb convencionais, e anunciando o futuro do tratamento com terapias cada vez mais sofisticadas, seguras e específicas.

As aprovações pelos órgãos reguladores internacionais apontam para a importância que os BsAbs vêm adquirindo, especialmente para pacientes com opções de tratamento limitadas e resultados ruins com regimes de quimioterapia disponíveis. O uso da imunoterapia com BsAbs tem-se mostrado uma alternativa importante e promissora para o tratamento do câncer, especialmente em neoplasias hematológicas.

an anti-CD38 monoclonal antibody. This became the first bispecific antibody approved in Brazil for the multiple myeloma treatment (ANVISA, 2023).

4. CONCLUSIONS

BsAbs can redirect immune system cells, stimulating and integrating a new type of therapeutic response, proving to be an innovative alternative in immunotherapy and a cutting-edge option that combines molecular biology engineering and the immune system biological activity. Recruiting the immune system in the combat against cancer has great potential, with success already seen in the hematological malignancies treatment. BsAbs represent a more individual vision and specific treatment for cancer patients, providing a “personalized” attack on malignant tumor cells, overcoming some the conventional mAb approaches limitations, and heralding the treatment future with increasingly sophisticated therapies, safe and specific.

Approvals from international regulatory agencies point to the importance that BsAbs are acquiring, especially for patients with limited treatment options and poor outcomes with available chemotherapy regimens. The use of immunotherapy with BsAbs has been indicated as an important and promising alternative for the cancer treatment, especially in hematological malignancies.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there are no conflicts of interest.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Conceptualization, D.O.D. and C.A.Y.W.; methodology, D.O.D.; validation, C.A.Y.W.; investigation, D.O.D.; data curation, D.O.D.; writing - preparation of the original draft, D.O.D. and C.A.Y.W.; writing - Review and editing, C.A.Y.W.; supervision, C.A.Y.W.; project coordination, C.A.Y.W.; the authors read and agreed to the published version of the manuscript.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não ter nenhum conflito de interesse.

CONTRIBUIÇÕES AUTORAIS

Conceptualização, D.O.D. e C.A.Y.W.; metodologia, D.O.D.; validação, C.A.Y.W.; investigação, D.O.D.; curadoria de dados, D.O.D.; redação - preparação do draft original, D.O.D. e C.A.Y.W.; redação - revisão e edição, C.A.Y.W.; supervisão, C.A.Y.W.; coordenação do projeto, C.A.Y.W.; os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- Alibakhshi A, Kahaki FA, Ahangarzadeh S, Yaghoobi H, Yarian F, Arezumand R, Ranjbari J, Mokhtarzadeh A and Guardia M. Targeted cancer therapy through antibody fragments-decorated nanomedicines, *J. Control. Release* **268**:323–334, 2017.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=5312732&_101_type=content&_101_groupId=219201&_101_urlTitle=keytruda-e-blincyto-tem-novas-indicacoes-aprovadas&redirect=http%3A%2F%2Fantigo.anvisa.gov.br%2Fresultado-de-busca%3Fp_p_id%3D3%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3Dcolumn-1%26p_p_col_count%3D1%26_3_groupId%3D0%26_3_keywords%3DBlincyto%26_3_cur%3D1%26_3_struts_action%3D%252Fsearch%252Fsearch%26_3_format%3D%26_3_formDate%3D1441824476958&inheritRedirect=true, consultado em 02-05-2023, 2019.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=3374008&_101_type=content&_101_groupId=219201&_101_urlTitle=medicamentos-para-cancer-e-hemorragias-aprovadas&redirect=http%3A%2F%2Fantigo.anvisa.gov.br%2Fresultado-de-busca%3Fp_p_id%3D3%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3Dcolumn-1%26p_p_col_count%3D1%26_3_groupId%3D0%26_3_keywords%3DBlincyto%26_3_cur%3D1%26_3_struts_action%3D%252Fsearch%252Fsearch%26_3_format%3D%26_3_formDate%3D1441824476958&inheritRedirect=true, consultado em 02-05-2023, 2017.
- Brinkmann U, Kontermann RE. The making of bispecific antibodies. *mAbs* **9**:182–212, 2017.
- Budde LE, Sehn LH, Matasar M, Schuster SJ, Assouline S, Giri P, Kuruvilla J, Canales M, Dietrich S, Fay K, Ku M, Nastoupil L, Cheah CY, Wei MC, Yin S, Li CC, Huang H, Kwan A, Penuel E, Bartlett NL. Safety and efficacy of Mosunetuzumab, a bispecific antibody, in patients with relapsed or refractory follicular lymphoma: a single-arm, multicentre, phase 2 study. *The Lancet Oncology*, **23**:1055–1065, 2022.
- Buske C. Mosunetuzumab, a bispecific antibody, in patients with relapsed or refractory follicular lymphoma. *The Lancet Oncology* **23**:967–969, 2022.
- Clynes RA, Desjarlais JR. Redirected T Cell Cytotoxicity in Cancer Therapy. *Annual Review of Medicine* **70**:437–450, 2019.
- Coutinho, JPAF. Anticorpos Bi-específicos em Oncologia. Monografia Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, 2009.
- Curran E, Stock W. Taking a "BiTE out of ALL": blinatumomab approval for MRD-positive ALL. *Blood* **133**:1715–1719, 2019.
- Diário Oficial da União (DOU) – Imprensa Nacional. RESOLUÇÃO-RE Nº 952, DE 23 DE MARÇO DE 2023. Disponível em <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/servlet/INPDFViewer?jornal=515&pagina=109&data=27/03/2023&captchafield=firstAccess>, consultado em 02-05-2023, 2017.
- Dreyling M, Santoro A, Mollica L, Leppä S, Follows GA, Lenz G, Kim S, Nagler A, Panayiotidis P, Demeter J, Muhit`ozcan M, Kosinova M, Bouabdallah K, Morschhauser F, Stevens DA, Trevarthen D, Giurescu M, Cupit L, Liu L and Zinzani PL. Phosphatidylinositol 3-Kinase Inhibition by Copanlisib in Relapsed or Refractory Indolent Lymphoma. *J Clin Oncol* **35**: 3898–3905, 2017.
- Duell J, Lammers PE, Djuretic I, Chunyk AG, Alekar S, Jacobs I, Gill S. Bispecific Antibodies in the Treatment of Hematologic Malignancies. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* **106**:781–791, 2019.
- Elgundi Z, Reslan M, Cruz, E, Sifniti V, Kayser V. The state-of-play and future of antibody therapeutics. *Advanced Drug Delivery reviews* **122**:2–19, 2017.
- European Medicines Agency (EMA). Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/tecavayli>, consultado em 15-05-2023, 2023.
- Fan G, Wang Z, Hao M and Li J. Bispecific antibodies and their applications. *Journal of Hematology & Oncology* **8**:130, 2015.
- Ferl GZ, Reyes A, Sun LL, Cheu M, Oldendorp A, Ramanujan S, Stefanich EG. A Preclinical Population Pharmacokinetic Model for Anti-CD20/CD3 T-Cell-Dependent Bispecific Antibodies. *Clinical and Translational Science* **11**:296–304, 2018.
- Food and Drug Administration (FDA). Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-teclistamab-cqyv-relapsed-or-refractory-multiple-myeloma>, consultado em 15-05-2023, 2022.
- Girgis S, Lin SXW, Pillarisetti K, Banerjee A, Stephenson T, Ma X, Shetty S, Yang TY, Hilder BW, Jiao Q, Hanna B, Adams HC, Sun YN, Sharma A, Smit J, Infante JR, Goldberg JD, Elsayed Y. Translational Modeling Predicts Efficacious Therapeutic Dosing Range of Teclistamab for Multiple Myeloma. *Targeted Oncology* **17**:433–439, 2022.
- Gökbuğut N, Dombret H, Bonifacio M, Reichle A, Graux C, Faul C, Diedrich H, Topp MS, Brüggemann M, Horst HA, Havelange V, Stieglmaier J, Wessels H, Haddad V, Benjamin, JE, Zugmaier G, Nagorsen D, Bargou RC. Blinatumomab for minimal residual disease in adults with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood* **131**:1522–1531, 2018.
- Goulet, DR, Atkins WM. Considerations for the Design of Antibody-Based Therapeutics. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **109**:74–103, 2020.
- Hasanzadeh M, Tagi S, Solhi E, Mokhtarzadeh A, Shadjou N, Eftekhari A, Mahboob S. An innovative immunosensor for ultrasensitive detection of breast cancer specific carbohydrate (CA 15-3) in unprocessed human plasma and MCF-7 breast cancer cell lysates using gold nanoparticle electrochemically assembled onto thiolated graphene quantum dots, *Int. J. Biol. Macromol* **114**:1008–1017, 2018.

- Hosseini SS, Khalili S, Baradaran B, Bidar N, Shahbazi M, Mosafer J, Hashemzadeh M, Mokhtarzadeh A and Hamblin M. R. Bispecific monoclonal antibodies for targeted immunotherapy of solid tumors: Recent advances and clinical trials. *International Journal of Biological Macromolecules* **167**:1030-1047, 2021.
- Hua G, Scanlan, R, Straining R, Carlson DS. Teclistamab-cqyv: The First Bispecific T-Cell Engager Antibody for the Treatment of Patients With Relapsed or Refractory Multiple Myeloma. *Journal of the Advanced Practitioner in Oncology* **14**:163–171, 2023.
- International Agency for Research on Cancer. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/home>, consultado em 29-01-2024, 2024.
- Jen EY, Xu Q, Schetter A, Przepiorka D, Shen YL, Roscoe D, Sridhara R, Deisseroth A, Philip R, Farrell AT, Pazdur R. FDA approval: blinatumomab for patients with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia in morphologic remission with minimal residual disease. *Clin Cancer Res* **25**:473-477, 2019.
- Kang C. Mosunetuzumabe: First Approval. *Drugs* **82**:1229-1234, 2022.
- Kang C. Teclistamab: First Approval. *Drugs* **82**:1613–1619, 2022.
- Kantarjian H, Stein A, Gökbuget N, Fielding AK, Schuh AC, Ribera JM, Wei A, Dombret H, Foà R, Bassan R, Arslan Ö, Sanz MA, Bergeron J, Demirkan F, Lech-Maranda E, Rambaldi A, Thomas X, Horst HA, Brüggemann M, Topp MS. Blinatumomab versus Chemotherapy for Advanced Acute Lymphoblastic Leukemia. *New England Journal of Medicine* **376**:836–847, 2017.
- Kleber M, Ntanas-Stathopoulos I, Terpos E. Bcma in multiple myeloma - a promising key to therapy. *In Journal of Clinical Medicine* **10**:4088, 2021.
- Kontermann RE, Brinkmann U. Bispecific antibodies. *Drug Discovery Today* **20**:838-847, 2015.
- Labrijn AF, Janmaat ML, Reichert JM and Parren PWHI. Bispecific antibodies: a mechanistic review of the pipeline. *Nature Reviews Drug Discovery*, **18**: 585–608, 2019
- Lanier OL, Pérez-Herrero E, Andrea APD, Bahrami K, Lee E, Ward DM, Ayala-Suárez N, Rodríguez-Méndez SM, Peppas NA. Immunotherapy approaches for hematological cancers. *iScience* **25**:105326, 2022.
- Longhitano AP, Slavin MA, Harrison SJ, Teh BW. Bispecific antibody therapy, its use and risks for infection: Bridging the knowledge gap. *Blood Reviews* **49**:100810, 2021.
- Lopedote P, Shadman M. Targeted Treatment of Relapsed or Refractory Follicular Lymphoma: Focus on the Therapeutic Potential of Mosunetuzumabe. *Cancer Management and Research* **15**:257–264, 2023.
- Ma J, Mo Y, Tang M, Shen J, Qi Y, Zhao W, Huang Y, Xu Y, Qian C. Bispecific Antibodies: From Research to Clinical Application. *Frontiers in Immunology* **12**:626616, 2021.
- Macedo, MJPB. Estratégias e inovações aplicadas ao desenvolvimento de anticorpos monoclonais. Trabalho de Conclusão do Curso de Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 2018.
- Martinelli G, Boissel N, Chevallier P, Ottmann O, Gökbuget N, Topp MS, Fielding AK, Rambaldi A, Ritchie EK, Papayannidis C, Sterling LR, Benjamin J, Stein, A. Complete Hematologic and Molecular Response in Adult Patients With Relapsed/Refractory Philadelphia Chromosome-Positive B-Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia Following Treatment With Blinatumomab: Results From a Phase II, Single-Arm, Multicenter Study. *J Clin Oncol* **35**:1795–1802, 2017.
- Martinelli G, Boissel N, Chevallier P, Ottmann O, Gökbuget N, Rambaldi A, Ritchie EK, Papayannidis C, Tuglus CA, Morris JD and Stein A. Long-term follow-up of blinatumomab in patients with relapsed/refractory Philadelphia chromosome-positive B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: Final analysis of ALCANTARA study. *European Journal of Cancer* **146**:107–114, 2021.
- Moreau P, Garfall AL, van de Donk NWCJ, Nahi H, San-Miguel JF, Oriol A, Nooka AK, Martin T, Rosinol L, Chari A, Karlin L, Benboubker L, Mateos MV, Bahlis N, Popat R, Besemer B, Martínez-López J, Sidana S, Delforge M, Usmani, SZ. Teclistamab in Relapsed or Refractory Multiple Myeloma. *New England Journal of Medicine* **387**:495–505, 2022.
- Ordóñez-Reyes C, García-Robledo JE, Chamorro DF, Mosquera A, Sussmann L, Ruiz-Patiño A, Arrieta O, Zatarain-Barrón L, Rojas L, Russo A, Miguel-Perez D, Rolfo C, Cardona AF. Bispecific Antibodies in Cancer Immunotherapy: A Novel Response to an Old Question. *Pharmaceutics* **14**:1243, 2022.
- Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *British Medical Journal* **372**:n71, 2021.
- Pillarsetti K, Powers G, Luistro L, Babich A, Baldwin E, Li Y, Zhang X, Mendonça M, Majewski N, Nanjunda R, Chin D, Packman K, Elsayed Y, Attar R, Gaudet F. Teclistamab is an active T cell-redirecting bispecific antibody against B-cell maturation antigen for multiple myeloma. *Blood Advances* **4**:4538–4549, 2020.
- Rader C. Bispecific antibodies in cancer immunotherapy. *Current Opinion in Biotechnology* **65**:9–16, 2020.
- Shimada A. Hematological malignancies and molecular targeting therapy. *European Journal of Pharmacology* **862**:172641, 2019.
- Soverini S, Bassan R, Lion T. Treatment and monitoring of Philadelphia chromosome-positive leukemia patients: Recent advances and remaining challenges. *Journal of Hematology and Oncology* **12**:39, 2019.
- Sun LL, Ellerman D, Mathieu M, Hristopoulos M, Chen X, Li Y, Yan X, Clark R, Reyes A, Stefanich E, Mai E, Young J, Johnson C, Huseni M, Wang X, Chen Y, Wang P, Wang H, Dybdal N, Chu YW, Ciorazzi N, Scheer JM, Junttila T, Totpal K, Dennis MS, Ebens AJ. Anti-CD20/CD3 T cell-dependent bispecific antibody for the treatment of B cell malignancies. *Sci Transl Med* **7**:287ra70, 2015.
- Suurs FV, Hooge MNL, Vries EGE, Groot DJA. A review of bispecific antibodies and antibody constructs in oncology and clinical challenges. *Pharmacology & Therapeutics* **201**:103–119, 2019.
- Tiller KE and Tessier PM. Advances in Antibody Design. *Annual Review of Biomedical Engineering* **17**:191-216, 2015.
- Topp MS, Gökbuget N, Stein AS, Zugmaier G, O'Brien S, Bargou RC, Dombret H, Fielding AK, Heffner L, Larson RA, Neumann S, Foà R, Litzow M, Ribera JM, Rambaldi A, Schiller G, Brüggemann M, Horst H A, Holland C, Kantarjian HM. Safety and activity of blinatumomab for ault patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: A multicentre, single-arm, phase 2 study. *The Lancet Oncology* **16**:57–66, 2015.
- Usmani SZ, Garfall AL, van de Donk NWCJ, Nahi H, San-Miguel JF, Oriol A, Rosinol L, Chari A, Bhutani M, Karlin L, Benboubker L, Pei L, Verona R, Girgis S, Stephenson T, Elsayed Y, Infante J, Goldberg JD, Banerjee A and Krishnan A. Teclistamab, a B-cell maturation antigen × CD3 bispecific antibody, in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (MajesTEC-1): a multicentre, open-label, single-arm, phase 1 study. *The Lancet*, **398**: 665–674, 2021
- Velasquez, MP, Bonifant CL, Gottschalk S. Redirecting T cells to hematological malignancies with bispecific antibodies. *Blood* **131**:30–38, 2018.

- Stackelberg A, Locatelli F, Zugmaier G, Handgretinger R, Trippett TM, Rizzari C, Bader P, O'Brien MM, Brethon B, Bhojwani D, Schlegel PG, Borkhardt A, Rheingold SR, Cooper T M, Zwaan CM, Barnette P, Messina C, Michel , Dubois, SG, Gore L. Phase I/Phase II study of blinatumomab in pediatric patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Oncology* **34**:4381–4389, 2016.
- Viardot A, Bargou R. Bispecific antibodies in haematological malignancies. *Cancer Treatment Reviews* **65**:87-95, 2018.
- Wang Q, Chen Y, Park J, Liu X, Hu Y, Wang T, Mcfarland K, Betenbaugh MLJ. Design and Production of Bispecific Antibodies. *Antibodies* **8**:43, 2019.
- Wang S, Chen K, Lei Q, Ma P, Yuan AQ, Zhao Y, Jiang Y, Fang H, Xing S, Fang Y, Jiang N, Miao H, Zhang M, Sun S, Yu Z, Tao W, Zhu Q, Nie Y, Li N. The state of the art of bispecific antibodies for treating human malignancies. *EMBO Molecular Medicine* **13**:9, 2021.
- Xu Y, Lee J, Tran C, Heibeck TH, Wang WD, Yang J, Stafford RL, Steiner AR, Sato AK, Hallam TJ, G. Production of bispecific antibodies in "knobsinto-holes" using a cell-free expression system. *mAbs* **7**:231-242, 2015.
- Yang F, Wen W, Qin W. Bispecific Antibodies as a Development Platform for New Concepts and Treatment Strategies. *International Journal of Molecular Sciences* **18**:48, 2017.
- Zhu M, Wu B, Brandl C, Johnson J, Wolf A, Chow A, Doshi S. Blinatumomab, a Bispecific T-cell Engager (BiTE®) for CD-19 Targeted Cancer Immunotherapy: Clinical Pharmacology and Its Implications. *Clinical Pharmacokinetics* **55**:1271–1288, 2016.