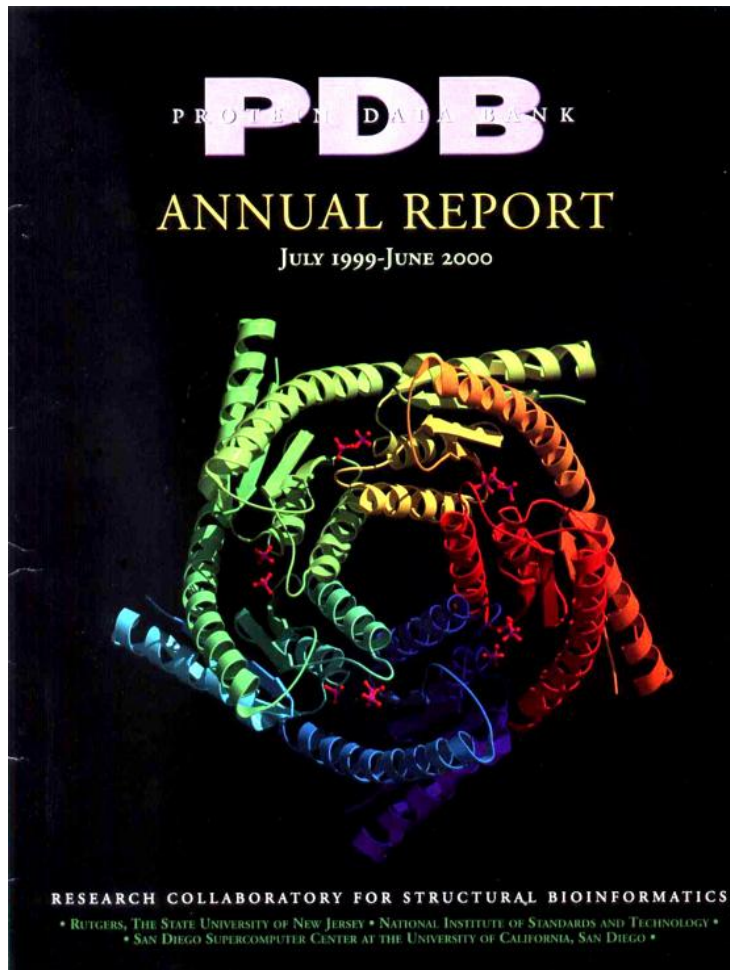
A pipette tip is shown in the upper left corner, and a yellow microcentrifuge tube containing a yellow liquid is in the lower left corner. A blue rectangular box is overlaid on the right side of the image, containing the title text.

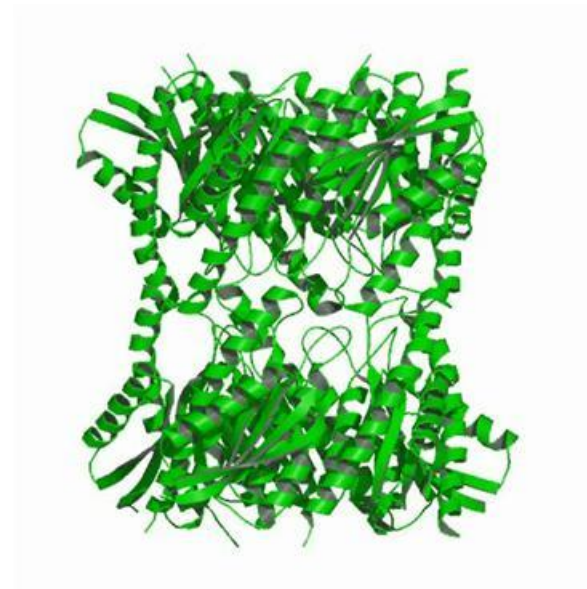
# “Potencial terapéutico de anticuerpos anti toxina Shiga contra el síndrome urémico hemolítico ”

Dr. Fernando Goldbaum  
Investigador Superior del CONICET  
Director del Instituto de Investigaciones  
Bioquímicas de Buenos Aires,  
Fundación Leloir

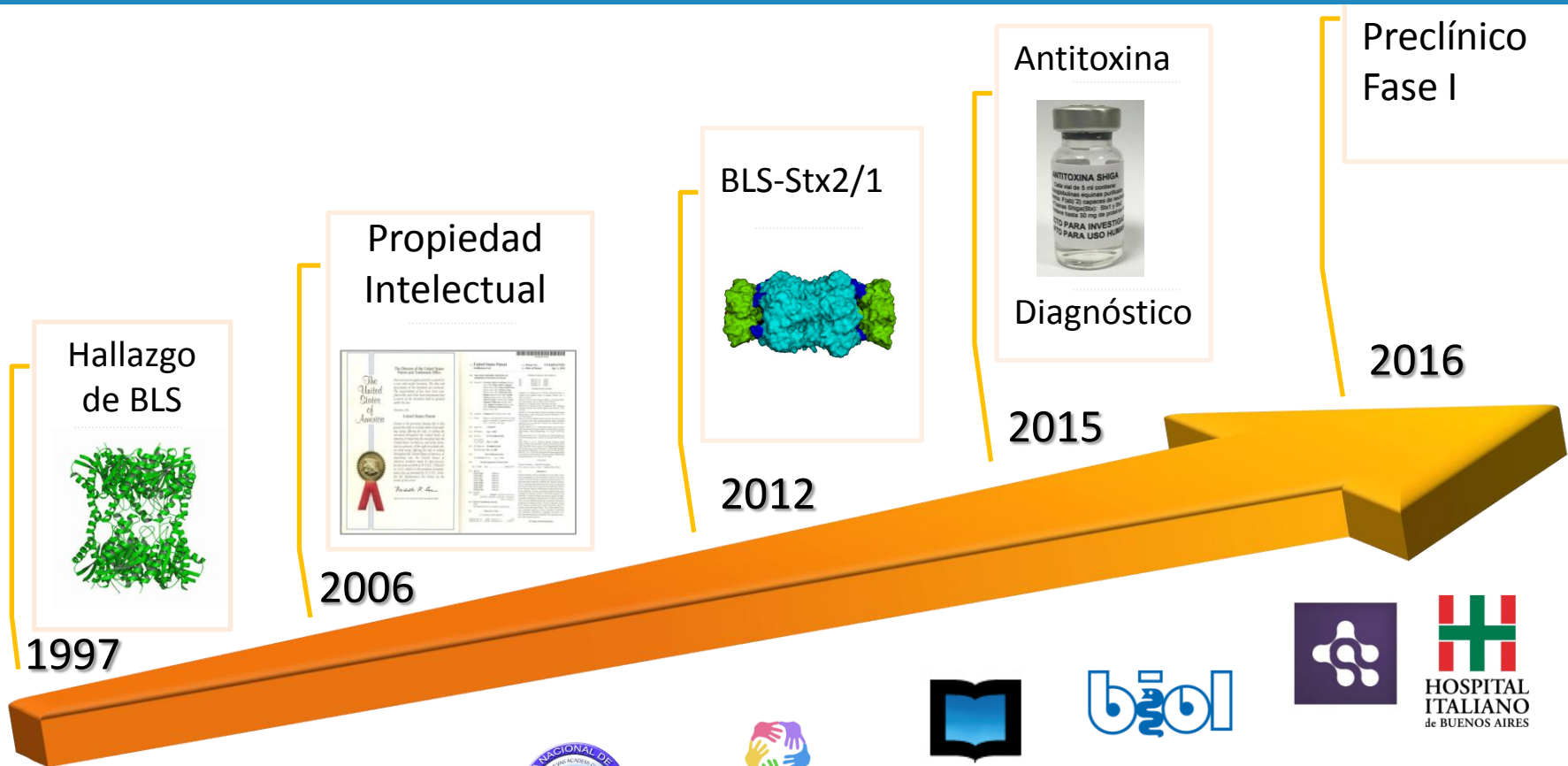
# *Brucella abortus* Lumazine Synthase



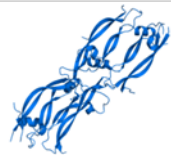
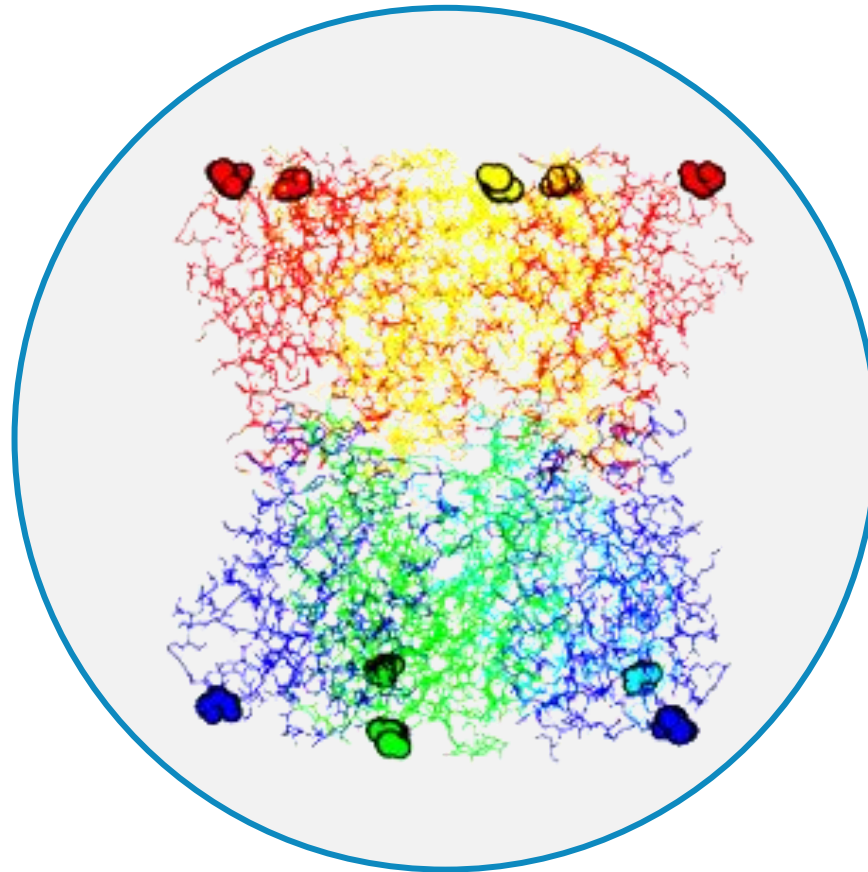
- Proteína decamérica  
MW =  $18 \times 10 = 180$ kDa.
- Muy inmunogénica (Respuesta Celular y Humoral).
- Compacta con una estructura muy estable (resistente a altas temperaturas y concentraciones de urea).



# De la investigación básica a la clínica



# *Brucella abortus* Lumazine Synthase



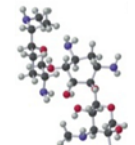
Full Proteins



Protein  
Domains

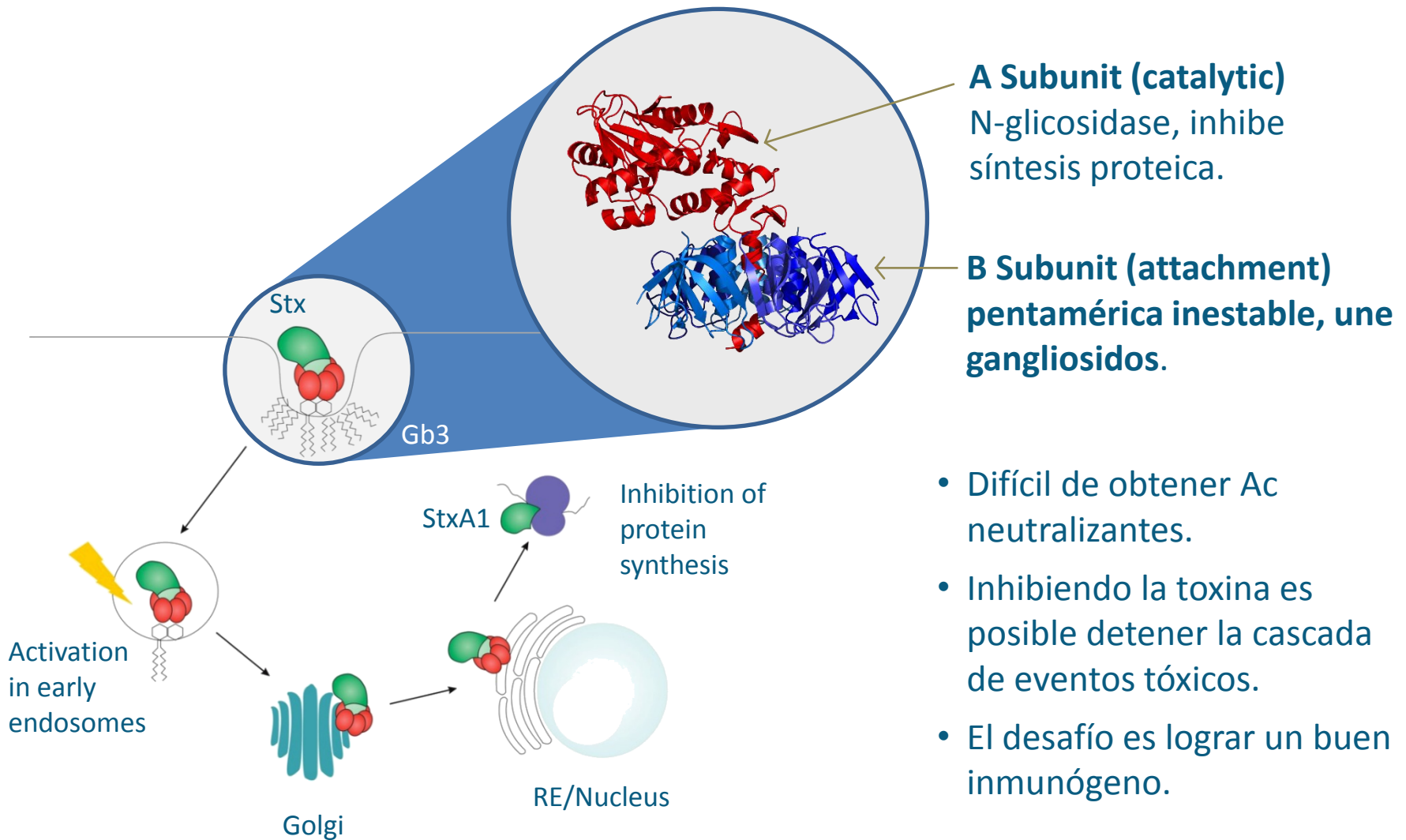


Peptides



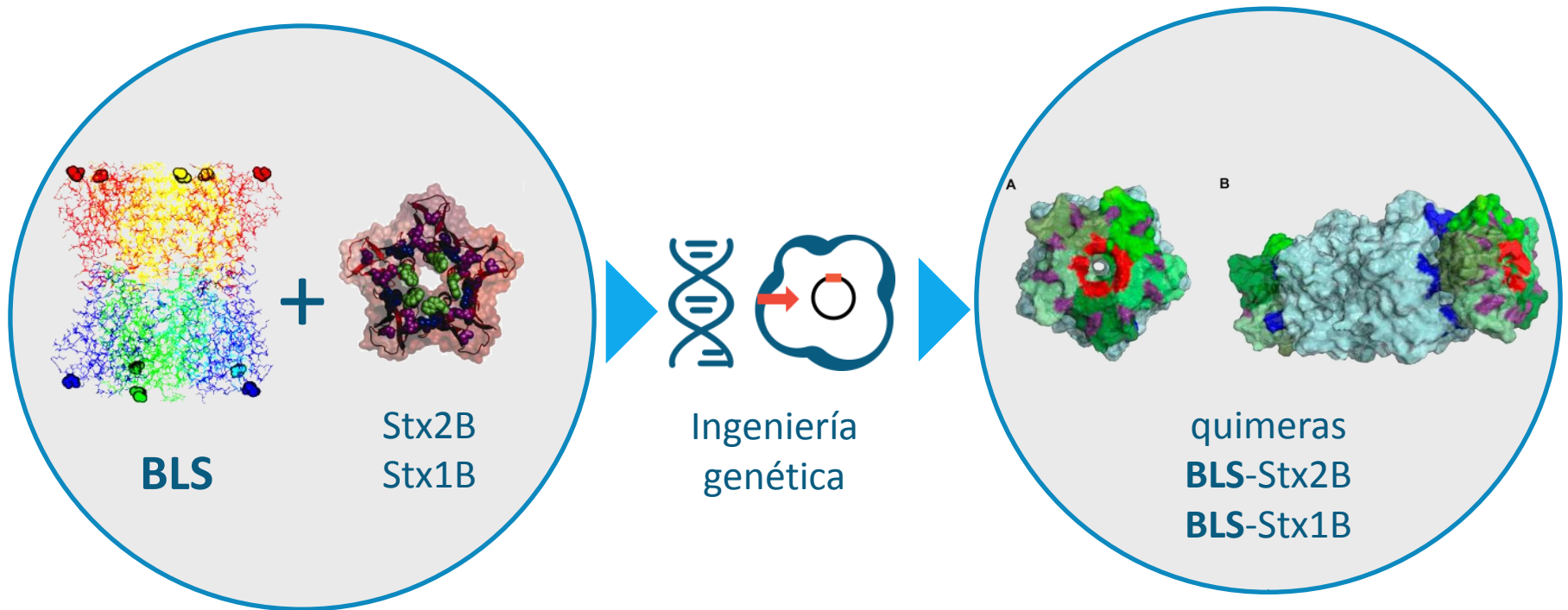
Polysaccharides

# Stx juega un papel fundamental en el desarrollo de la enfermedad

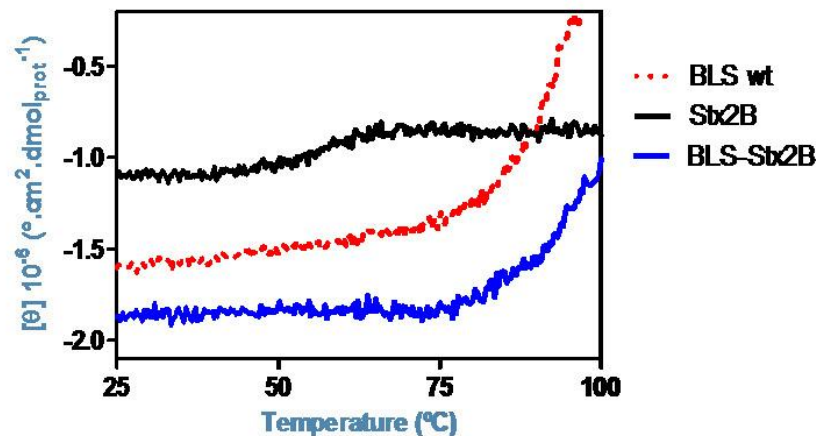
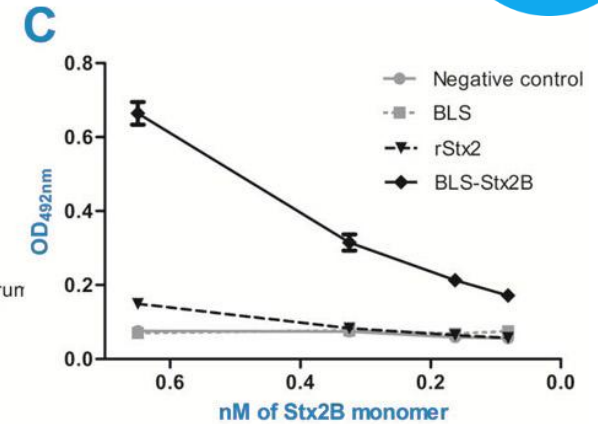
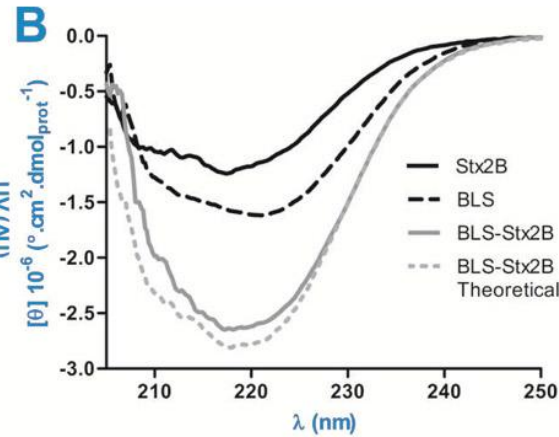
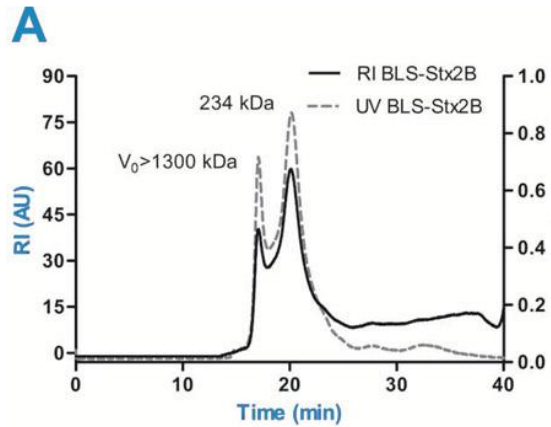


- Difícil de obtener Ac neutralizantes.
- Inhibiendo la toxina es posible detener la cascada de eventos tóxicos.
- El desafío es lograr un buen inmunógeno.

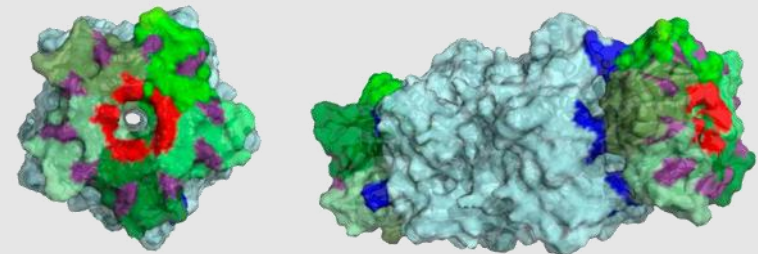
# Generación de un inmunógeno fusionando la subunidad B de la toxina a BLS



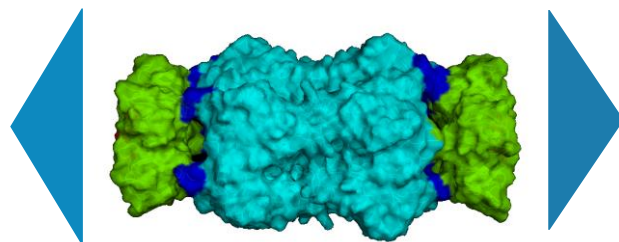
# Estudios funcionales y de estabilidad



La unión a GB3 requiere del correcto folding del pentámero



Vacuna pediátrica  
basada en la  
quimera

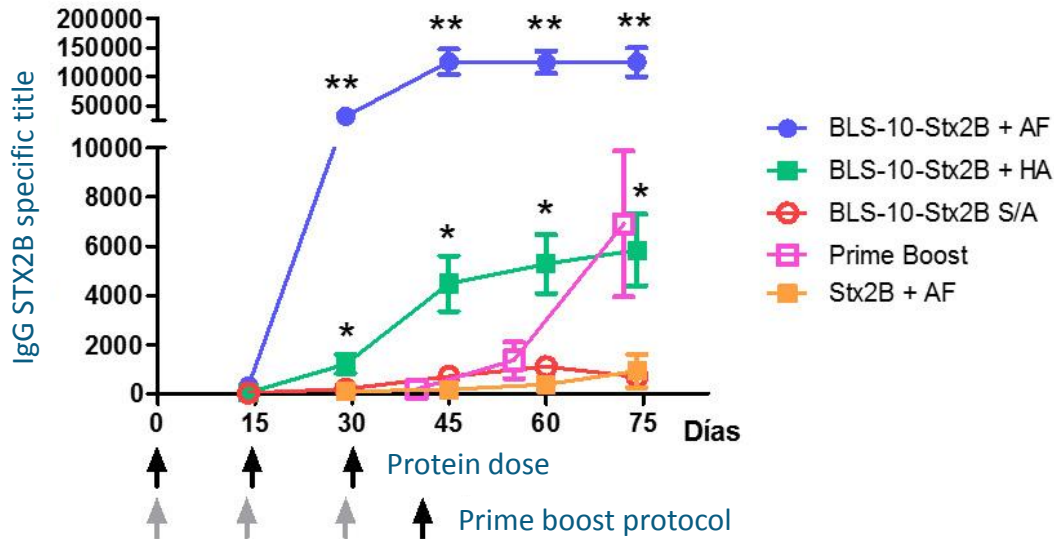


Tratamiento  
terapéutico

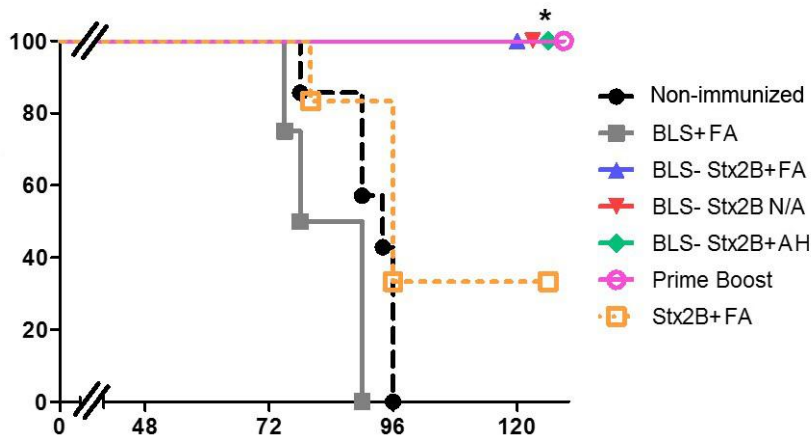
- Anticuerpos monoclonales
- Suero hiperinmune anti shiga



# La inmunización con la quimera otorga protección contra dosis letales de toxina



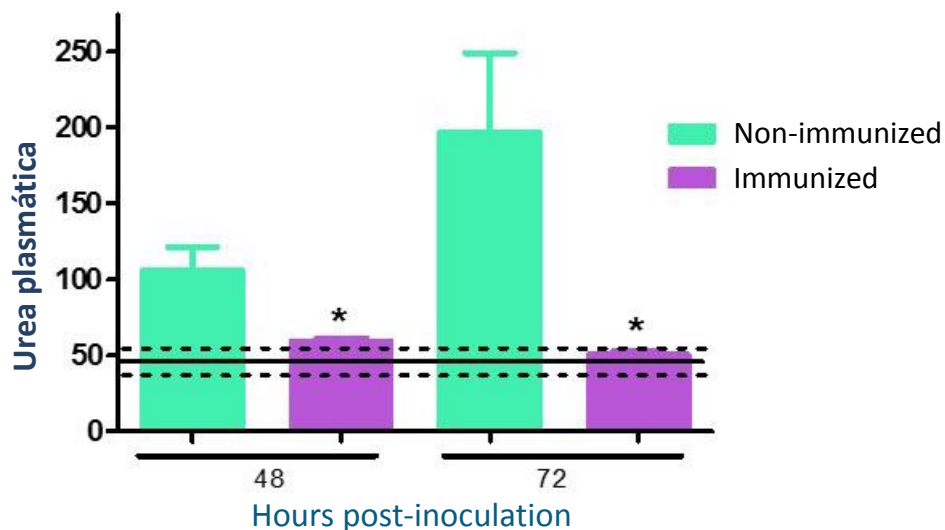
- Inducción de altos títulos de anticuerpos contra StxB.
- Protección contra una dosis letal de toxina i.v.



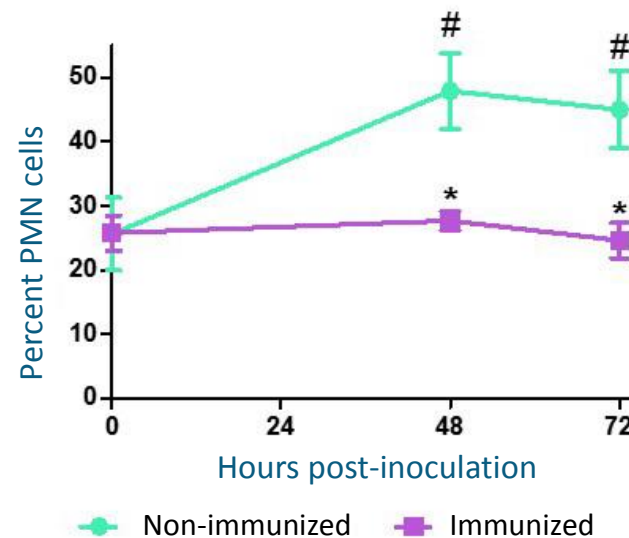
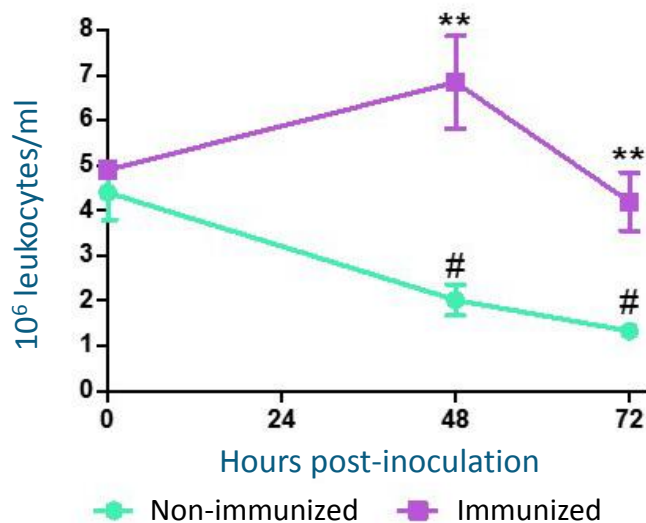
# La inmunización con BLS-Stx2B mejora considerablemente los parámetros clínicos asociados al SUH



## Evaluación de daño renal

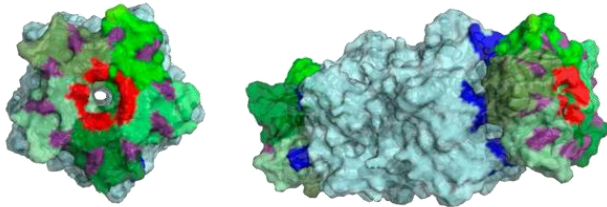


## Análisis de las poblaciones leucocitarias

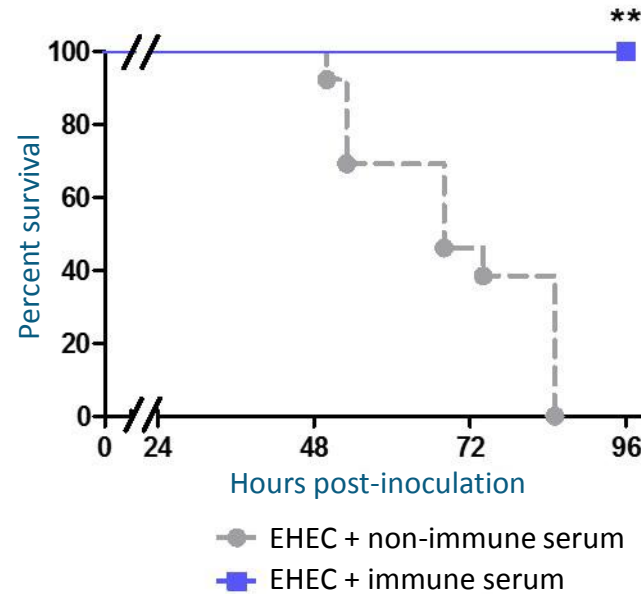


# Por medio de Inmunización pasiva se protege contra contra dosis letales de toxina

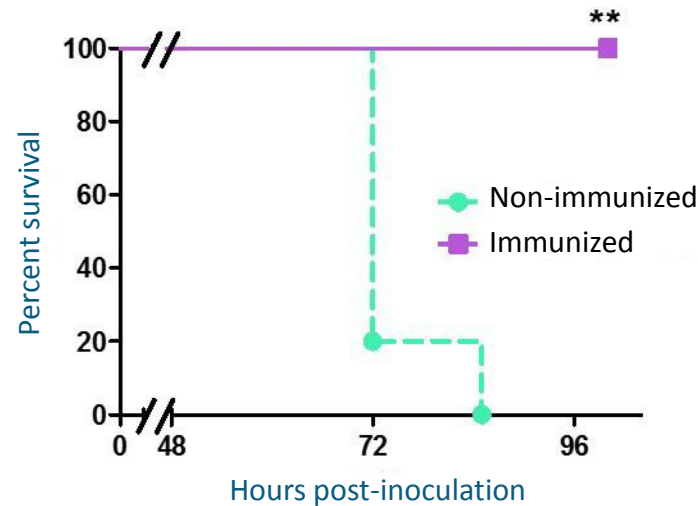
1. Modelo de protección usando sueros de animales previamente inmunizados



2. Modelo de protección por transferencia materna (lactancia)

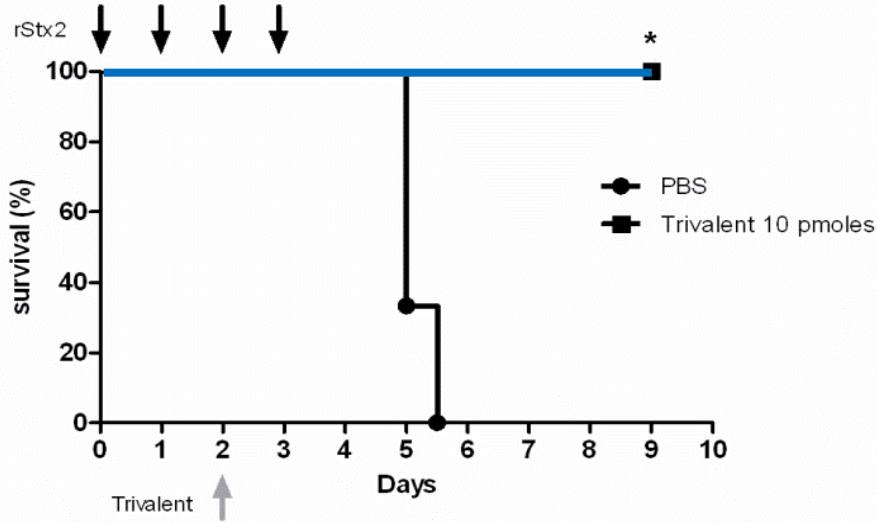
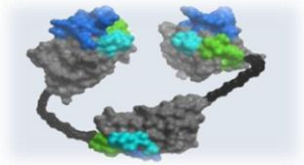
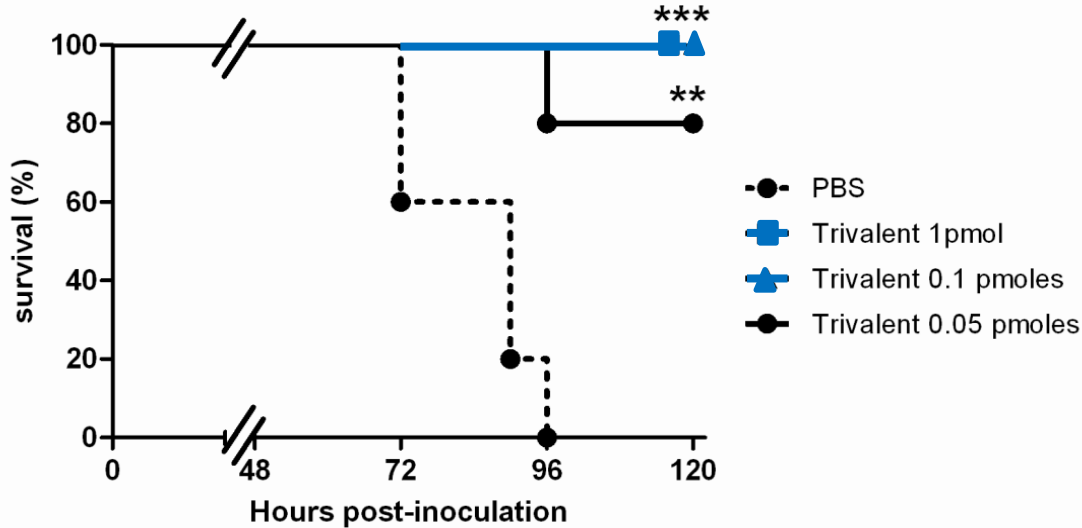


100%  
Eficacia



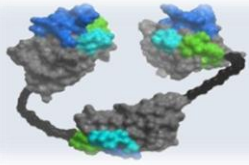
100%  
Eficacia

# Desarrollo de monoclonales como posible terapia

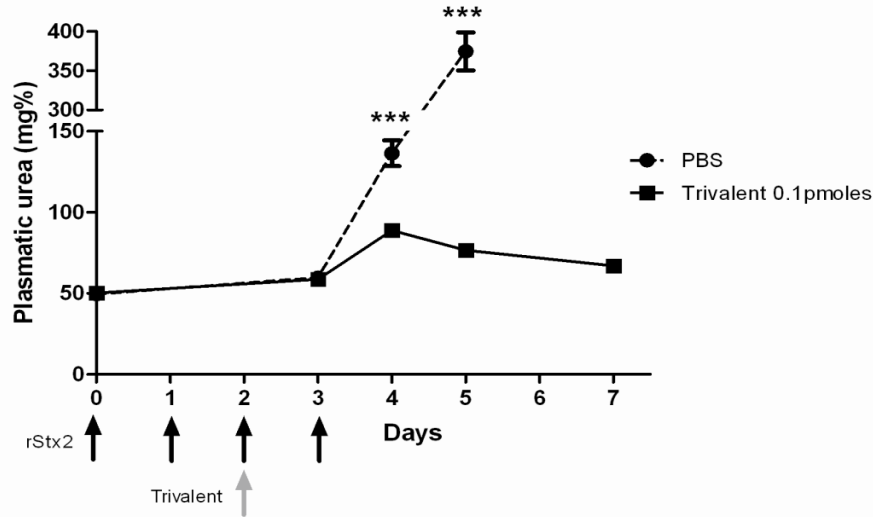


**PROTECCIÓN IN VIVO:  
MODELO CON DOSIS  
REPETIDAS DE STX2**

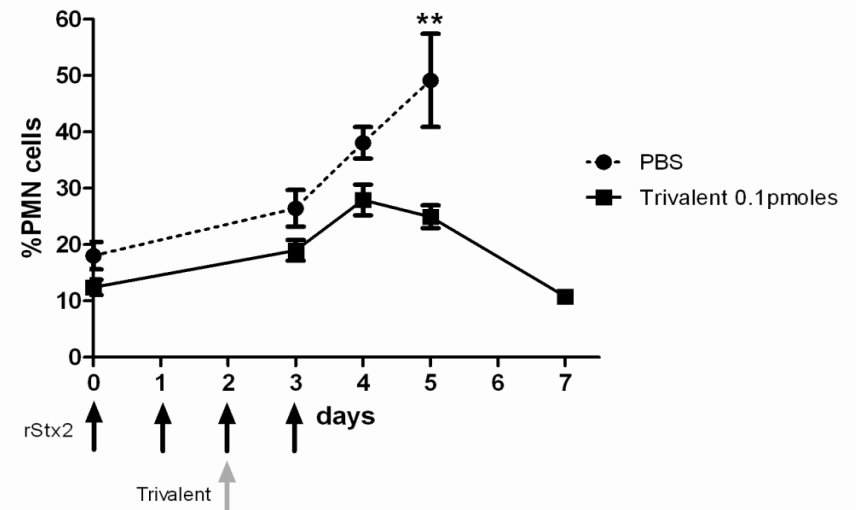
# Protección in vivo: parámetros de daño asociado a Stx2



Niveles de urea plasmática



Celulas PMN en circulación

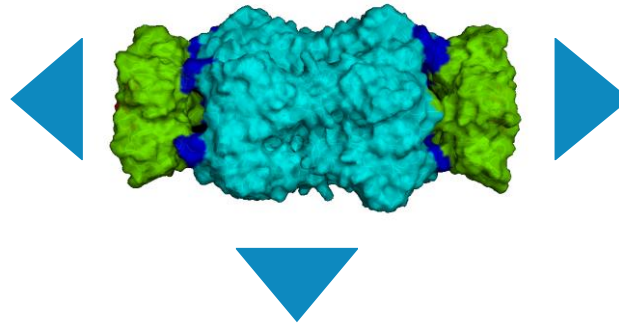




# Estrategias potenciales para el desarrollo de tratamiento contra el SUH

## Vacuna pediátrica basada en la quimera

- Inmunógeno potente.
- Protección duradera.
- Evaluación riesgo/beneficio.



## Anticuerpos monoclonales

- Largo tiempo de desarrollo.
- Más de un anticuerpo para neutralizar los distintos tipos de Stx
- Muy alto costo

## Anti toxina shiga

- Perfil de seguridad conocido.
- Polivalente contra distintos tipos de Stx.
- Aplicables luego de diagnóstico rápido, permitiendo aplicación temprana.



# Antivenenos y Antitoxinas Equinas (fracción F(ab')<sub>2</sub>) actualmente utilizadas

- Se usan hace más de 30 años como sueros antitetánicos y antiofídicos.
- Perfil de seguridad conocido.
- Respuesta policlonal contra diversos epitopes, mayor poder neutralizante (ventaja competitiva sobre Anticuerpos monoclonales).
- Existen hoy en día distintos productos similares aprobados por FDA y EMA.

Producto	Compañía	Aplicación	Tipo
<b>Anascorp</b> <sup>®</sup>	RDTX inc.	Picadura de escorpión	F(ab') <sub>2</sub> Equina
<b>ANAVIP</b> <sup>®</sup>	RDTX inc.	Picadura de serpiente de familia Crotalidae	F(ab') <sub>2</sub> Equina
<b>BAT</b> <sup>®</sup>	Emergent Biosolutions	Anti toxina botulínica heptavalente	F(ab') <sub>2</sub> Equina
<b>ANTIVENIN</b> <sup>®</sup>	Merck	Picadura de araña viuda negra	IgG Equina





Contents lists available at ScienceDirect

# Toxicon

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/toxicon](http://www.elsevier.com/locate/toxicon)

## Safety of intravenous equine F(ab')<sub>2</sub>: Insights following clinical trials involving 1534 recipients of scorpion antivenom



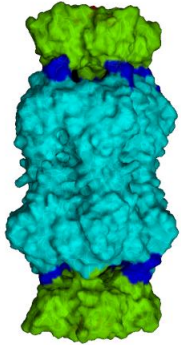
- ANASCORP<sup>®</sup>: 1° aprobación x FDA
- Eventos Adversos de 1534 sujetos (1204 niños y 330 adultos)
- 5 ensayos clínicos prospectivos, 1 estudio histórico control (EEUU y Mexico)
- Exposición 12-275 mg de proteínas/sujeto.

Evento Adverso	N° de sujetos
Reacción hipersensibilidad tipo 1	3/1534
Reacción hipersensibilidad tipo 3	8/1534

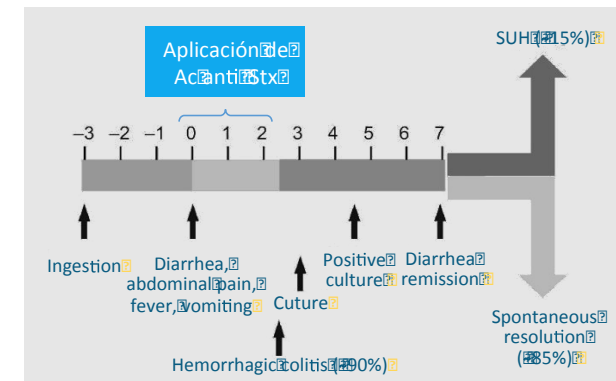
### RESULTADOS:

Reacciones inmunes retardadas: **incidencia 0.5%**

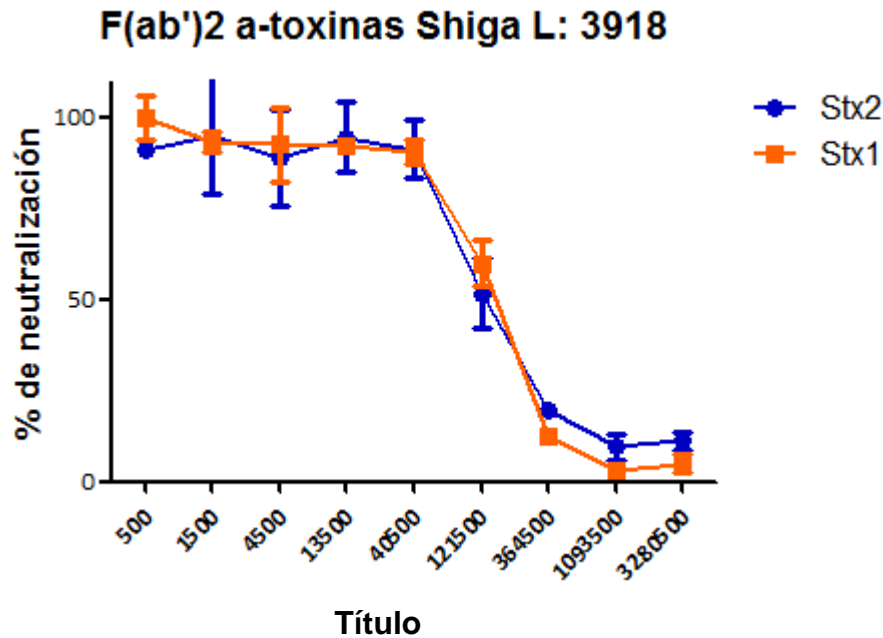
# Producto Innovador



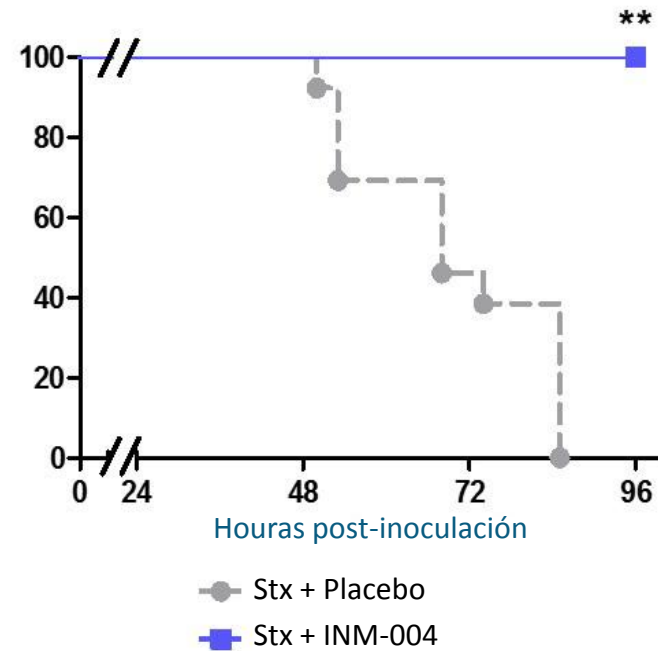
- **Producto:** Antitoxina Shiga que neutraliza tanto Stx1 como Stx2 con muy alta potencia.
- **Estado:** Lote GMP producido en BIOL.  
Ensayos pre-clínicos en CMC-CONICET - Septiembre 2016  
Fase I a realizarse en Diciembre- Enero Htal Italiano
- **Aplicación:** Tratamiento de pacientes con diagnóstico de diarrea sanguinolenta + diagnóstico rápido de Shiga Tx.



# La antitoxina shiga neutraliza Stx1 y Stx2 y previene la mortalidad asociada a Stx en modelos murinos



Neutraliza Stx1 y Stx2 *in vitro* en un ensayo con células vero.



**100%**  
Eficacia

Previene la mortalidad inducida por Stx1 y Stx2 en modelos murinos.

2016

2017

2018

Pre-Clínico

anmat  
Administración Nacional de Medicamentos,  
Alimentos y Tecnología Médica



- Dos especies animales (ratones y conejos)
- Seguridad, farmacocinética y toxicidad
- Dosis hasta 10 veces más alta que la dosis terapéutica y dosis repetidas.
- Se determina la reactividad cruzada con tejidos humanos (EEUU)
- Calibrar la dosis de producto que posteriormente se utilizará en seres humanos

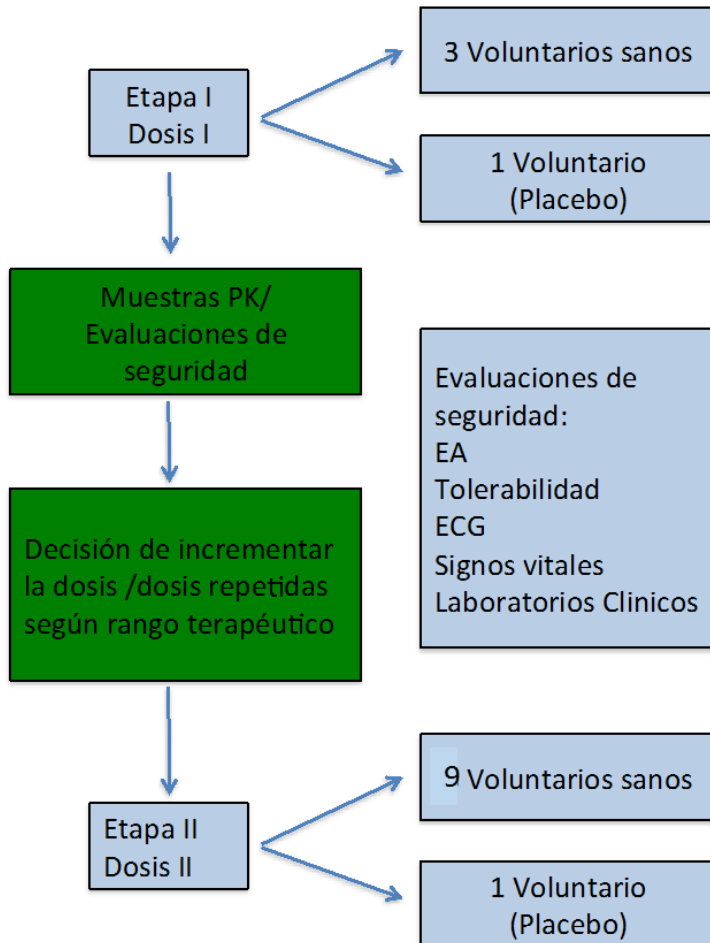
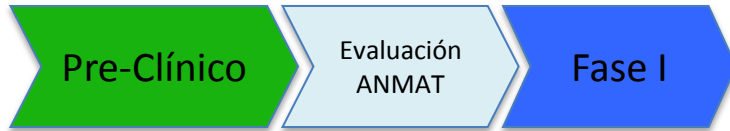
**Resultados parciales (Agosto 2016) - más de 500 animales tratados -**

- **Sin alteraciones clínicas ni subclínicas significativas asociadas al tratamiento repetido en altas dosis**
- **No se observaron cambios significativos en hemograma ni en los parámetros de laboratorio (Proteínas totales, Albúmina, BUN, Creatinina y Bilirrubina)**

2016

2017

2018



Safety, potential efficacy, and pharmacokinetics of specific polyclonal immunoglobulin F(ab')<sub>2</sub> fragments against avian influenza A (H5N1) in healthy volunteers: a single-centre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 study



2016

2017

2018

Pre-Clínico

Evaluación  
ANMAT

Fase I

Evaluación  
ANMAT

Fase II



Interacción con  
médicos referentes

Articulación con  
la comunidad y  
sociedades  
científicas

Definir Número  
de pacientes

Selección de  
centros

Ensayo clínico  
Fase II

Definir Criterios  
Inclusión y  
Exclusion

Interacción con Autoridades  
Regulatorios (ANMAT)

# Participan en el proyecto





Gracias





CENTRO DE  
MEDICINA COMPARADA



CONICET







ICIVET LITORAL



- 1) Farmacocinética y **seguridad** en ratones.
- 2) Neutralización *in vivo*.
- 3) Neutralización *in vivo* para determinar ventana terapéutica.
- 4) Eficacia *in vivo* en roedores.
- 5) **Toxicidad a dosis repetida en roedores.**
- 6) Ensayo *in vitro* de Citotoxicidad en células Vero.
- 7) Farmacocinética a dosis repetida en roedores.
- 8) Determinación de reactividad cruzada con tejidos de las especies a usar en ensayos preclínicos.
- 9) Farmacocinética y seguridad en conejos.
- 10) Toxicidad a dosis repetida en conejos.
- 11) Determinación de reactividad cruzada con tejidos humanos (lab. Extranjero).

# Tecnologías con anticuerpos

Empresa	Anticuerpo	Origen	Especif.
 <p><b>TEIJIN</b> <i>Human Chemistry, Human Solutions</i></p>	TMA-15	Mab, humanizado	Stx2
 <p><b>Bellus</b> HEALTH</p>	Shigamab™	Mab, humanizado	Stx2 Stx1?
 <p><b>SYNSORB</b></p>	Synsorb PK	Análogo del receptor de la shiga toxina unido a cromosorb P	Stx1 Stx2
 <p><b>INMUNOVA</b></p>	Inm-004	Fragmento F <sub>(ab)</sub> 2	Stx1 y Stx2