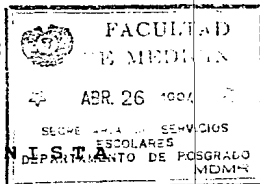


T E S I S

QUE PARA OBTENER EL

TITULO DE

MEDICO INTERNO



P R E S E N T A

DR. CARLOS ORTEGA GONZALEZ

RESIDENTE DE TERCER AÑO DE

MEDICINA INTERNA

HE "DR. BERNARDO SEPULVEDA"

CMN SXXI IMSS

ASESOR DE TESIS:

DR. JOSE HALABE CHEREM

MEDICO JEFE DEL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA HE CMN SXXI

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE MEDICINA INTERNA HE CMN SXXI

MEXICO, D.F.

FEBRERO/1994

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

11-2-94  
207  
13  
LEJ  
207  
207  
207



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INSTITUTO MEXICANO DEL

SEGURO SOCIAL

DELEGACION No. 3 SUROESTE

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES

" DR. BERNARDO SEPULVEDA "

DEL CMN SXXI

T E S I S

" ANTICUERPOS MONOCLONALES USO

EN TRATAMIENTO Y :

DIAGNOSTICO "

*Halabe*

---

DR. JOSE HALABE CHEREM  
JEFE DEL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE MEDICINA INTERNA  
ASESOR DE TESIS

*Halabe*

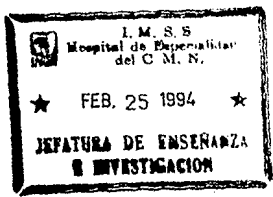
---

DR. JOSE HALABE CHEREM  
JEFE DEL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA Y  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE MEDICINA INTERNA  
DEL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DEL CENTRO MEDICO  
NACIONAL SIGLO XXI "DR. BERNARDO SEPULVEDA"

*wach*

---

DR NIELS WACHER RODARTE  
JEFE DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION  
DEL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DEL CENTRO MEDICO  
NACIONAL SIGLO XXI "DR. BERNARDO SEPULVEDA"



# INDICE .

I.	INTRODUCCION .....	01
II.	ANTECEDENTES .....	03
	A. Historia de la inmunización pasiva .....	03
	B. Estructura de los anticuerpos .....	04
	C. Clases de anticuerpos .....	05
	D. Bases genéticas de los diversos anticuerpos .	06
	E. Respuesta inmunológica humoral .....	07
	F. Bases celulares de la respuesta inmune ....	07
III.	ANTICUERPOS MONOCLONALES .....	08
IV.	USOS CLINICOS DE LOS ANTICUERPOS MONOCLO NALES .....	13
	A. Inmunosupresión .....	13
	B. Enfermedades infecciosas .....	15
	C. Estados tóxicos .....	19
	D. Cáncer (tumores sólidos) .....	20
	E. Enfermedades hematológicas malignas .....	21
	F. Otras aplicaciones .....	21
V.	CONCLUSIONES .....	23
VI.	BIBLIOGRAFIA .....	25

## INTRODUCCION.

Cuando en 1975, George Köhler y César Milstein, del Consejo de Investigación Médica del Laboratorio de Biología Molecular en Cambridge, describieron un método que permitía la obtención de híbridos celulares con capacidad ilimitada de proliferar y de producir constantemente un mismo anticuerpo (monoclonal), iniciaron una verdadera revolución tecnológica, que está encontrando un número creciente de aplicaciones en la investigación básica, en procedimientos industriales diversos, en el diagnóstico biológico y en la terapéutica:

La inmunización pasiva ha sido usada en la práctica clínica desde el siglo pasado, principalmente para profilaxis. El éxito de tratamientos tempranos fue ensombrecido por reacciones anafilácticas y por la enfermedad del suero, debido a que los anticuerpos o las antitoxinas no fueron creadas en humanos. La recombinación de segmentos de genes durante la síntesis de anticuerpos significa que, anticuerpos específicos para numerosos antígenos, pueden ser producidos a partir de un "pool" genético limitado. Los linfocitos asesinos, los fagocitos y el complemento, se ligan entonces, a la región constante del anticuerpo, facilitando la eliminación del patógeno.

El desarrollo de un método para obtener grandes cantidades de anticuerpos en contra de un antígeno específico (anticuerpos monoclonales), ofrece la posibilidad de iniciar los mecanismos de defensa del huésped, contra cualquier antígeno no deseado, aún cuando sigue habiendo algunos problemas para prevenir al organismo, del ataque de los anticuerpos monoclonales (1).

Los anticuerpos monoclonales son moléculas adaptadoras que contienen sitios de unión para antígenos en un extremo y, para moléculas efectoras en el otro extremo y esto les permite ligarse a una amplia gama de antígenos. El ligarse por sí solos, puede ser suficiente para neutralizar algunas toxinas y virus, sin embargo, más comúnmente, disparan al sistema del complemento y a las células asesinas. A pesar de que los anticuerpos son agentes terapéuticos naturales existe probada dificultad para crear anticuerpos monoclonales humanos, mediante la tecnología hibridoma.

Los anticuerpos monoclonales de roedores, desafortunadamente, tienen serias desventajas: una vida media corta en suero; sólo algunas de las diferentes clases pueden desencadenar funciones efectoras en el humano; y también, los anticuerpos monoclonales pueden producir respuestas inmunes indeseables en los pacientes (anticuerpos humanos anti ratón o HAMA). Los HAMA pueden acrecentar el aclaramiento de los anticuerpos del suero, bloqueando sus efectos terapéuticos y dando reacciones de hipersensibilidad. Estos problemas han impulsado al uso de tecnología de ingeniería genética para "humanizar" a los anticuerpos monoclonales de roedores, mediante el transplante de sitio de unión para antígenos, de anticuerpos de roedores a anticuerpos humanos. En principio, la humanización permite el acceso a

un gran "pool" de anticuerpos monoclonales de roedores, bien - caracterizados, para terapia, incluyendo aquellos con especificidad en contra de antígenos humanos que son difíciles de producir a partir de una respuesta inmune humana. (2)

El advenimiento de la tecnología hibridoma-anticuerpos monoclonales, ha introducido a la Biología y a la Medicina, en una nueva era. El uso de los anticuerpos monoclonales ha venido a significarse en una gran variedad de nuevos agentes de investigación e inmunodiagnóstico. Sin embargo, las aplicaciones terapéuticas de los anticuerpos monoclonales, se han rezagado, debido principalmente a que su potencial en esta área ha sido apenas conocido en los últimos años. (2)

Es la intención de este trabajo de tesis, revisar el pasado, el presente y el futuro de los anticuerpos monoclonales en el diagnóstico y tratamiento de algunas enfermedades infecciosas, neoplásicas, inmunológicas, hematológicas, estados tóxicos, etc.

## ANTECEDENTES.

### Historia de la inmunización pasiva:

El primer uso de la inmunización pasiva se cree que ocurrió en 1891. El receptor fué un joven en Berlín con difteria, el cual curó tras recibir una inyección de antitoxina diftérica.

La inmunización pasiva está basada en los trabajos realizados por Emil Behring y Shibasaburo Kitasato, del Instituto de Higiene de Roberto Koch en Berlín. En 1890, Behring y Kitasato publicaron un importante artículo, en el cual mostraban que, el suero de un animal activamente inmunizado en contra de la toxina diftérica, podía ser usado para neutralizar incluso, una dosis fatal de la toxina, en otro animal (3).

El potencial para tratamiento en humanos fue inmediatamente evidente. Al tiempo que la difteria era una enfermedad común y a menudo mortal, Behring inició sus trabajos, tratando de producir grandes cantidades de antitoxina que pudieran ser efectivas en contra de la difteria en los humanos. La compañía farmacéutica Farberwerke Hoechst incrementó su producción usando ovejas inmunizadas, iniciándose los primeros grandes estudios en 1893 con buenos resultados. La inmunización de equinos fue entonces iniciada y, para 1894, los casos de mortalidad por difteria en París, disminuyeron del 52 al 25%. Behring sugirió que la combinación de toxina diftérica y antitoxina sérica, era un método seguro para producir inmunidad activa en los humanos. Esta teoría fue desechada cuando se encontró que, el toxoide diftérico inactivo, inducía inmunidad (3).

El mayor problema con la seroterapia pasiva fué su toxicidad. Reacciones anafilácticas ocurrían a menudo tras la administración de suero de caballo y, la enfermedad del suero, era común. Behring creyó que el efecto "antitoxínico", residía en la fracción proteica del suero y mostró que el sulfato de amonio, precipitaba una fracción (conocida ahora como gammaglobulina) que retenía la actividad antitoxínica.

La precipitación redujo los efectos colaterales pero no por completo, superando los problemas de la enfermedad del suero, lo cual ahora se sabe, es el resultado del depósito de complejos inmunes circulantes. El desdoblamiento de la gammaglobulina por la pepsina, redujo aún más la incidencia de la enfermedad del suero (3).

La producción a gran escala de antisuero para la toxina diftérica, fué hecha posible a través del trabajo del bacteriólogo Paul Ehrlich. El realizó en un principio, trabajos con conejos y toxinas bacterianas y posteriormente desarrolló ensayos en cerdos guinea, para evaluar la potencia de los diferentes tipos de antisueros. Ehrlich propuso la teoría de la toxicidad por cadenas laterales. El sugirió que las toxinas medían sus efectos sobre las células a través de cadenas laterales proteicas preformadas y que la inmunidad se incrementaba, debido a la sobreproducción de estas cadenas. Estas cadenas laterales son reminiscencia de lo que actualmente nosotros conocemos co-



mo anticuerpos, a pesar de que Ehrlich asumió en forma incorrecta, que su función primaria no tenía nada que hacer con la neutralización de toxinas.

La introducción de preparados de inmunoglobulinas humanas en 1944, como tratamiento y protección contra el sarampión finalmente superó el problema de la enfermedad del suero y hoy, las inmunoglobulinas humanas siguen utilizándose. Los pacientes agamaglobulinémicos se han beneficiado con la disponibilidad de preparaciones de inmunoglobulinas, relativamente puras, las cuales les son dadas regularmente para prevenir infecciones. Hay generalmente dos tipos de preparaciones: inmunoglobulinas normales e inmunoglobulinas específicas. La inmunoglobulina normal es preparada de "pools" de por lo menos 1000 donaciones aleatorizadas de plasma humano y contiene anticuerpos para Hepatitis A, sarampión, parotiditis y otros virus. Produce protección inmediata durante por lo menos 4 a 6 semanas. Las inmunoglobulinas específicas son preparadas de sangre de pacientes convalescientes de enfermedades específicas. Las preparaciones están disponibles en contra de varios patógenos, incluyendo virus de la Hepatitis B, Clostridium tetani y virus varicelozos. Otras inmunoglobulinas específicas que se encuentran disponibles o en desarrollo incluyen, por ejemplo, anticuerpos anti-tirhusus D. Existe especial interés en la inmunización pasiva para el SIDA. Algunos antisueros no pueden ser producidos con seguridad en el humano y así, por ejemplo, globulinas antilinfocíticas de caballos y conejos, siguen utilizándose en el tratamiento de la anemia aplásica severa y para suprimir rechazo de injertos renales (3).

### Estructura de los anticuerpos:

Los componentes activos de gamaglobulina que protegen en contra de los efectos de las toxinas diftérica y tetánica, se sabe ahora que son inmunoglobulinas, también conocidas como anticuerpos. La IgG, el prototipo de los anticuerpos, es una glicoproteína con un peso molecular de 150,000 Daltons. La molécula consiste en dos heterodímeros idénticos de cadenas pesadas-cadenas ligeras, ligadas por puentes disulfuro, que le dan una estructura en forma de "Y". Cada cadena pesada comprende un dominio variable (V) y tres dominios inmunoglobulínicos constantes (Ig), mientras que las cadenas ligeras constan de un dominio variable y un dominio constante Ig. Cada dominio comprende cerca de 110 aminoácidos.

A partir de una perspectiva funcional, el carácter distintivo importante son los sitios de unión con el antígeno (Fab) y la región Fc (fragmento cristalizáble), lo cual es responsable para iniciar los mecanismos de defensa del huésped. La región Fc es el pie de la estructura en forma de "Y", mientras que los dos sitios de unión con antígenos son los extremos de ambos -

-brazos. La región articular del anticuerpo es flexible, de tal manera que los sitios de unión del antígeno, están separadas - amplia y variablemente, lo que le permite ligarse a dos antígenos idénticos a la vez; muchos microorganismos invasores, tales como bacterias y virus, tienen subunidades repetidas y este efecto permite mucho mayor efectividad al ligarse (efecto de avidéz). Los sitios de unión múltiples permiten además, -- agregación y rápida eliminación del antígeno.

A pesar de que un anticuerpo puede tener un efecto neutralizador directo sobre un virus o toxina, los sistemas de defensa - mediados por Fc son necesarios para eliminar el origen del antígeno. Los anticuerpos pueden sensibilizar una célula blanco para el ataque por los linfocitos asesinos, mediante la opsonización de la célula con IgG. Los linfocitos asesinos reconocen a la célula blanco abrigada (opsonizada), debido a que tienen receptores para la región Fc de IgG en su superficie. Este modo de destrucción es conocido como citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos. Similarmente, los fagocitos (incluyendo macrófagos y neutrófilos), detectan y opsonizan antígenos a través de receptores Fc. La combinación de anticuerpo y antígeno pueden activar la vía clásica del complemento y, depósitos de complemento en las células blanco pueden producir lisis o mayor opsonización.

#### **Clases de anticuerpos:**

Hay cinco clases de inmunoglobulinas, clasificadas de acuerdo al tipo de cadena pesada que poseen: IgG, IgA, IgM; IgD e IgE. IgG comprende el 70% de todas las inmunoglobulinas y es producida principalmente en cambios inmunes secundarios. Hay 4 subclases de IgG (IgG 1-4), las cuales varían en su capacidad para iniciar los sistemas de defensa del huésped. IgG1 e IgG3, median la toxicidad celular dependiente de anticuerpos y pueden unirse al complemento, mientras que IgG2 e IgG4, son relativamente deficientes en estas funciones (IgG2 puede unirse al complemento, sin embargo, es menos efectivo que IgG1 e IgG3). La IgG está presente en los espacios intra y extravasculares y, de manera importante, puede cruzar la placenta para proteger el desarrollo del feto y del recién nacido. La IgM conforma el 10% de todas las inmunoglobulinas; tiene una estructura pentamérica y está principalmente confinada al espacio intravascular. Es un potente anticuerpo fijador del complemento pero no puede producir citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos. La IgA (inmunoglobulina secretoria), conforma cerca del 20% del total de los anticuerpos. Tiene una estructura dimerica y está presente en secreciones tales como la saliva y la leche. La IgD conforma menos del 1% de las inmunoglobulinas plasmáticas y se encuentra principalmente en la superficie de las células B. Su función es desconocida. La IgE se une a los receptores Fc sobre la superficie de los basófilos, eosinófilos y mastocitos, donde se enlaza en forma cruzada con los an-

tígenos que disparan la liberación de mediadores farmacológicos que pueden causar reacciones de hipersensibilidad inmediata (4).

#### Bases genéticas de los diversos anticuerpos:

El hecho de que cada anticuerpo tenga su propia secuencia de aminoácidos en la región variable, sugiere un gene separado para cada anticuerpo producido. Si esto no sucediera, la mayoría de los genomas humanos, necesitarían un código para un número extenso de moléculas de anticuerpos que pudieran existir. En 1965, Dreyer y Bennett hipotetizaron que cada clase de regiones constantes, están codificadas para un gene, pero que grandes cantidades de genes existen para los dominios variables (VH y VI). Acertadamente sugirieron que los genes de anticuerpos pueden estar formados por recombinaciones entre estos genes, durante el desarrollo de células B. Nosotros sabemos ahora que el montaje de los genes para los dominios variables, ocurre por articulaciones aleatorizadas de un número de segmentos de genes (V, D y J para cadenas pesadas o V y J para cadenas ligeras) y que una diversidad adicional resulta de menos o más nucleótidos en las uniones entre estos segmentos de genes. En el caso de las cadenas pesadas, hay cerca de 75 segmentos VH, cerca de 30 segmentos DH y 6 segmentos JH, en cada cromosoma. El segmento V codifica la mayoría de los dominios variables, incluyendo la primera y segunda regiones complementariamente determinantes (CDR1 y CDR2), mientras que la variable mayor CDR3 es codificada por segmentos D y por nucleótidos en las uniones V-D y D-J. El segmento VDJ es entonces aplicado a la región constante del RNA mensajero, después de editar una gran cantidad de RNAT nuclear producido. El número de regiones variables de una inmunoglobulina única, posiblemente debido a recombinación aleatoria de segmentos de genes V, D y J, es muy grande. Más aún, las posiciones de unión de los segmentos VH, DH y JH, no son siempre las mismas y el segmento DH puede finalizar en cualquiera de las tres posibles lecturas formadas de aminoácidos. Esto, junto con la pérdida o adición de nucleótidos en forma aleatoria, en el límite entre los segmentos, incrementa aún más la diversidad. Una vez que cualquier cadena ligera es capaz de combinarse con cualquier cadena pesada, una diversidad enorme (estimada por arriba de 100,000,000,000 de anticuerpos), pueden producirse a partir de un pequeño número de segmentos de DNA. esto es conocido como hipermutación somática y usualmente ocurre durante la respuesta inmune a antígenos extraños.

## Respuesta inmunológica humoral:

Durante una infección típica, los anticuerpos protectores son producidos en contra de los organismos invasores. Después de una fase inicial de retraso, el nivel detectable de anticuerpos en el torrente sanguíneo incrementa rápidamente, alcanzando una meseta, y entonces caen a niveles bajos una vez que el patógeno ha sido erradicado. La IgM es el primer anticuerpo en aparecer en esta respuesta primaria, seguido por la IgG, la cual tiene un mayor período de retraso. La reexposición al mismo patógeno da elevación de la "memoria" o respuesta secundaria, la cual es más fuerte y con una fase de retraso más corta. Esta respuesta secundaria está dominada por la IgG y tiende a ser de mucho mayor afinidad.

## Bases celulares de la respuesta inmune:

Los anticuerpos son producidos por los linfocitos B. Estas células se desarrollan en el hígado fetal y subsecuentemente en la médula ósea. Es en este sitio, en donde ocurre un reajuste en los genes de inmunoglobulinas y células B potencialmente no civas, son eliminadas del repertorio. En este estado de reposo cada célula B muestra un anticuerpo específico en su superficie. En un momento, hay cerca de 1000,000,000 de clones de células B diferentes en el cuerpo, cada una de ellas, presentando un anticuerpo único. Cuando el antígeno entra al cuerpo, se une específicamente a sólo unas cuantas de de estas células B en reposo, estimulándolas para dividirse y madurar dentro de las células plasmáticas, que secretan grandes cantidades de inmunoglobulinas, las cuales previamente estaban presentes en su superficie. Este modelo de selección clonal de células B fue originalmente propuesto en los 50's por McFarlane Burnett. Durante la proliferación de células B inducida por antígenos, hay un cambio en la clase principal de anticuerpos producidos de IgM a IgG, IgA o IgE, y las células B que secretan anticuerpos de mayor afinidad empiezan a emerger. El cambio de clase de células B es un proceso complejo el cual es regulado por factores externos, incluyendo secreción local de citoquinas por antígenos específicos de las células T ayudadoras. Algunas de las células proliferantes no se transforman en secretorias, pero continúan presentando su anticuerpo de superficie y persisten circulando mucho tiempo después de que la infección ha desaparecido. Estas células B de memoria, son responsables de un inicio más rápido y de mayor intensidad de la respuesta inmune secundaria.

## Anticuerpos monoclonales:

En términos generales, entendemos por anticuerpo monoclonal, - el producido por las células derivadas de un sólo linfocito B (clona). De vez en cuando, una de éstas células adquiere una - capacidad ilimitada de proliferación. Cuando esto ocurre espon - táneamente in vivo, aparece una enfermedad tumoral que se cono - ce como mieloma (4).

Se han propuesto diversos métodos para inducir la transforma - ción tumoral de células linfoides in vitro, con el fin de in - mortalizar clonas productoras de anticuerpos de interés cientí - fico o industrial (4). Sin embargo, el único que hasta ahora - ha sido aplicado en forma extensiva, es el propuesto por Köhler y Milstein, basado en la fusión de una célula de mieloma y una célula productora de anticuerpo (3).

Aunque se han obtenido hibridomas de diversas especies, inclu - so entre células de especies distintas, la realidad es que, -- hasta el momento, la inmensa mayoría de anticuerpos monoclonales, se han obtenido por fusión de células de ratón (5).

El hibridoma de linfocitos, tal y como fue desarrollado por - Köhler y Milstein, es el producto de la fusión de una célula - de mieloma de ratón y un linfocito obtenido del bazo de un ra - tón inmunizado previamente en repetidas ocasiones con un anti - geno específico. La fusión puede lograrse empleando una varie - dad de virus o polietilenglicol. El resultado es una célula ú - nica con dos núcleos. Después, la membrana celular se rompe y los cromosomas se dividen y distribuyen al azar entre las dos células hijas, los hibridomas de linfocitos (6).

Estas manipulaciones se llevan a cabo en un medio selectivo. - Las células de mieloma, las cuales son incapaces de crecer en este medio debido a que carecen de las enzimas necesarias, muer - ren. Aunque las células esplénicas poseen estas enzimas, tam - bién mueren debido a que no son capaces de replicarse de mane - ra indefinida. Sin embargo, las células híbridas tienen tanto la enzima del linfocito, como la capacidad proliferativa de la célula tumoral, de manera que viven y, al hacerlo, inmortaliz - zan la capacidad de la célula esplénica para elaborar anticuer - pos específicos (6).

Los híbridos pueden crecer y ser separados en clonas. El medio de cultivo de las clonas se prueba en busca de anticuerpos con - tra el antígeno deseado, de manera que las clonas positivas - pueden ser seleccionadas y cultivadas en masa, in vitro o in - vivo (6,7). De cualquier manera, debido a que se originan de - una clona única, las células productoras de anticuerpos elabo - ran un sólo tipo de anticuerpo en grandes cantidades. En compa - ración, las técnicas clásicas producen sueros que contienen un amplio espectro de anticuerpos diferentes al deseado, aún cuan - do la titulación sea muy elevada (7).

En 1977, Alan Williams mostró que los anticuerpos monoclonales podían usarse en contra de moléculas de interés biológico y esto desencadenó el desarrollo de una corriente de usos de los anticuerpos monoclonales basados en procedimientos diagnósticos. Sin embargo, los anticuerpos monoclonales de roedores -- eran incompetentes o inefectivos para el tratamiento de humanos, debido a que estimulaban en forma débil los sistemas de defensa y ellos mismos eran el blanco de la respuesta inmune, lo cual acortaba en gran medida su vida media en la circulación (3,6,7).

Una solución a este problema fue producir anticuerpos monoclonales humanos, pero esto fué difícil por varias razones. En primer lugar, las células B humanas inmortalizadas por fusión con una célula de mieloma o por infección con virus de Epstein Barr, es inestable y puede perder rápidamente su capacidad de producir anticuerpos. Aún cuando su transformación haya sido exitosa, la producción de anticuerpos con el virus de Epstein Barr, tiende a ser menor y el virus usualmente transforma a las células secretoras de IgM, lo cual produce anticuerpos de menor afinidad. En segundo lugar, la hiperinmunización de sujetos es problemática, particularmente en contra de auto-antígenos. La inmunización in vitro, es decir, estimulación antigénica de linfocitos humanos cultivados, provee una solución parcial a este problema, pero la producción de anticuerpos sigue siendo inestable después de la inmortalización. El tercer problema es que la fuente de linfocitos humanos más conveniente por su asequibilidad, debería ser la sangre periférica, sin embargo, esta es una fuente pobre de células B productoras de anticuerpos específicos de alta afinidad. Tales células son más abundantes en el bazo, la médula ósea y los nódulos linfáticos (6,7).

Con el advenimiento de técnicas de ingeniería genética en la producción de anticuerpos, se han logrado varias alternativas de solución a la producción de anticuerpos monoclonales humanos (2,7).

La ingeniería Genética ha sido usada para crear moléculas quiméricas, en las cuales, la variable dominante de un anticuerpo está genéticamente ligada a una proteína no relacionada.

El anticuerpo es una molécula adaptadora que contiene sitios de unión para antígenos en un extremo y para moléculas efectoras en el otro y se ha involucrado su unión a una vasta cantidad de antígenos. El enlace por sí sólo, puede ser suficiente para neutralizar algunas toxinas y virus, sin embargo, más comúnmente, el anticuerpo desencadena al sistema del complemento y la destrucción mediada por células. No obstante que los anticuerpos son agentes terapéuticos naturales, está probada la dificultad para hacer anticuerpos monoclonales humanos por tecnología híbrida (2).

Los anticuerpos monoclonales de roedores desafortunadamente -

tienen serias desventajas: una vida media corta en sangre; sólo algunas de las diferentes clases pueden desencadenar funciones efectoras en el humano; asimismo, los anticuerpos monoclonales pueden producir una respuesta inmune no deseada en los pacientes (anticuerpos humanos anti ratón o HAMA). Los HAMA pueden resultar en un incremento del aclaramiento de los anticuerpos séricos, bloqueando sus efectos terapéuticos y dando reacciones de hipersensibilidad. Este problema ha llevado al uso de tecnologías de Ingeniería Genética para "humanizar" los anticuerpos monoclonales de roedores, mediante el trasplante de sitios de unión con antígenos de roedores a los anticuerpos humanos. En principio, la humanización permite el acceso a una gran cantidad de anticuerpos monoclonales de roedores, bien caracterizados, para terapia, incluyendo aquellos con especificidad contra antígenos humanos, que son difíciles de despertar, a partir de una respuesta inmune humana (2).

La primera generación de anticuerpos humanizados fueron simples anticuerpos monoclonales quiméricos, en los cuales, el dominio variable de un anticuerpo monoclonal de roedor era transplantado al dominio constante de un anticuerpo humano. Esto redujo la inmunogenicidad del anticuerpo monoclonal del roedor y permitía las funciones efectoras seleccionadas para la aplicación terapéutica. (7.8).

La segunda generación de anticuerpos monoclonales humanizados, fueron los llamados anticuerpos injertados a regiones determinadas complementariamente, en los cuales, el antígeno ligado a asas de anticuerpos monoclonales de roedores, eran construidos dentro de un anticuerpo humano. Tanto los anticuerpos quiméricos como los anticuerpos injertados-CDR, parecen tener mejores efectos farmacocinéticos que los anticuerpos de roedores, con extensión de la vida media sérica (más de 75 hr), tanto en humanos como en monos cinomólogos. Asimismo, la inmunogenicidad es menor (7.8).

Los anticuerpos quiméricos así como los anticuerpos injertados CDR, han sido construidos en contra de una gran variedad de patógenos virales y bacterianos y en contra de marcadores de superficie de células humanas, incluyendo antígenos de células tumorales. (7.8).

La inmunogenicidad de los anticuerpos humanizados parece depender de varios factores, incluyendo el estado inmune del paciente, la dosis y el régimen de administración de los anticuerpos. El blanco además, es también importante: los anticuerpos dirigidos en contra de antígenos ligados a la célula, pueden ser más inmunogénicos que aquellos ligados a antígenos solubles.

Las ventajas de los anticuerpos monoclonales sobre los anticuerpos policlonales (seroterapia o gammaglobulinas intravenosas) es obvia. La especificidad y afinidad del anticuerpo puede ser seleccionada deliberadamente con un gran nivel de precisión.

sión. El nivel de proteínas inyectadas es mucho menor que con los anticuerpos policlonales (lo cual disminuye el riesgo de enfermedad del suero o anafilaxia cuando el suero no es de origen humano) y; los anticuerpos pueden ser fácilmente estandarizados (el mismo hibridoma puede ser usado durante un período largo) (10,11).

Sin embargo, no debemos ignorar algunas limitaciones intrínsecas que pueden crear problemas en el desarrollo farmacéutico. Primero, algunas actividades de los anticuerpos policlonales no pueden ser fácilmente reproducidas por un sólo anticuerpo, por un lado, debido a que no es posible seleccionar los hibridomas productores de anticuerpos de alta afinidad presentes en el suero policlonal y, por otro lado, la mejor actividad del anticuerpo es solamente mediada por combinaciones de anticuerpos reconociendo diversos motivos antigénicos sobre la molécula blanco. Secundariamente, es difícil producir anticuerpos humanos derivados de linfocitos humanos (10,11)  
A continuación se muestran algunos de los blancos de los anticuerpos injertados-CDR, con fines terapéuticos:

---

**BLANCO****POTENCIAL CLINICO**

---

CDw52	linfomas, vasculitis sistémica, artritis reumatoide
CD3	Transplante de órganos
CD4	Transplante de órganos, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn
IL-2 receptor	Leucemias y linfomas, transplante de órganos, enfermedad injerto vs. huésped
TNF-alfa	Choque séptico
HIV	SIDA
RSV.	Infección respiratoria por el virus sincitial
HSV	Herpes neonatal ocular y genital
Lewis-y	Cáncer
p-185-HER-2	Cáncer
PLAP	Cáncer
CEA	Cáncer

---

TNF-alfa: factor de necrosis tumoral alfa; HIV: virus de inmunodeficiencia humana; HSV: virus del herpes simple; p-185-HER-2: receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico; PLAP: fosfatasa alcalina placentaria; CEA: antígeno carcinoembrionario.



-El uso terapéutico de los anticuerpos monoclonales ha sido investigado en un amplio espectro de presentaciones clínicas con muy diversos objetivos. Estos objetivos pueden ser clasificados dentro de cuatro categorías: inmunosupresión, enfermedades infecciosas, cáncer e intoxicaciones. En todas estas condiciones, las expectativas aportadas por los anticuerpos monoclonales, ofrece la esperanza de hallar nuevas soluciones a grandes problemas médicos, generalmente no resueltos por las drogas actualmente disponibles. (11,12,13).

Los años noventa serán el tiempo de prueba para los anticuerpos monoclonales. Las aplicaciones clínicas potenciales incluyen el tratamiento del cáncer, enfermedades autoinmunes, rechazo de trasplantes, infecciones virales y choque tóxico.

El Centro para la Explotación de la Ciencia y Tecnología ha estimado que el mercado total mundial destinará para anticuerpos monoclonales mil millones de dólares para 1994, incrementándose esta cifra a seis mil millones de dólares para el año 2000.

Los anticuerpos pueden neutralizar toxinas, bloquear la interacción de factores de crecimiento, hormonas, moléculas de adhesión intercelular o virus con sus receptores celulares afines y cubrir bacterias, virus o células, marcándolas para ser fagocitadas, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos o lisis mediada por complemento (12,13).

Los antígenos blanco, pueden entonces estar circulando o encontrarse sobre la superficie celular. Encontrar un antígeno blanco adecuado es probablemente el factor determinante más importante del cual depende el éxito o la falla de la terapia con los anticuerpos.

## USOS CLINICOS DE LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES.

### Inmunosupresión:

Las respuestas inmunes a antígenos propios o extraños, pueden llevar a destrucción autoinmune de los tejidos o rechazo a órganos transplantados (13). Las terapias inmunosupresivas incluyen corticosteroides, ciclosporina, drogas citotóxicas y antiseros antilinfocitos policlonales, todos los cuales tienen una alta toxicidad y en ocasiones son inefectivos.

Los anticuerpos monoclonales ofrecen una alternativa realista a estas drogas inmunosupresoras y esto es quizá su aplicación más útil (14). Los blancos potenciales para los anticuerpos monoclonales inmunosupresores, incluyen antígenos de diferenciación de linfocitos, citoquinas, receptores de citoquinas y moléculas de adhesión celular (13,14).

El primer anticuerpo monoclonal aprobado para la terapia en humanos (OKT3), es un reactivo murino inmunosupresor, el cual se une a los linfocitos T y es útil en el tratamiento del rechazo de trasplantes renales.

En común con muchos otros anticuerpos monoclonales antilinfocitos inmunosupresores, no parece estimular una fuerte respuesta anti-ratón. La toxicidad con OKT3 es peor con la primera dosis lo cual desencadena liberación de citoquinas por las células blanco y lleva en algunos casos a hipotensión, aumento de peso y dificultad respiratoria, progresando ocasionalmente al edema agudo pulmonar (13).

Muchos otros anticuerpos monoclonales inmunosupresores han mostrado su actividad en humanos. Entre los más prometedores están los anticuerpos contra antígenos linfocitarios CD4, Tac y CDw52, todos los cuales no han sido humanizados por anticuerpos injertados-CDR y varios anticuerpos monoclonales, los cuales bloquean la adhesión de las células inmunes e inflamatorias (13).

Los anticuerpos monoclonales contra CD4 inhiben la función de las células T ayudadoras y han sido usados con éxito variable para tratar rechazo agudo de injertos renales, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, LES, psoriasis, policondritis recidivante, vasculitis sistémica y micosis fungoide (13). Los anticuerpos monoclonales Tac, reconocen una alta afinidad con los receptores de interleucina 2 de los linfocitos activados y no se unen con los linfocitos en reposo. Ellos pueden bloquear, además, respuestas inmunes altamente específicas de antígenos específicos, sin dañar a los linfocitos en reposo. Los anticuerpos antinucleares Tac-murinos, han mostrado prevenir el rechazo temprano a injertos renales, pero sus respuestas anti-ratón fueron detectadas en el 81% de los pacientes después de un mes de tratamiento (15). Los anticuerpos Tac

humanizados (Tac-H), fueron recientemente comparados con el anticuerpo murino en primates receptores de injerto cardiaco (18). Los anticuerpos humanizados tienen una mayor vida media en sangre (103 vs 38 hr); fueron menos inmunogénicos (0% vs. 100% - respuestas antianticuerpos, antes del día 33) y producen una mayor sobrevida del injerto que con los anticuerpos murinos.

Los anticuerpos monoclonales inmunosupresores, dirigidos en contra de una amplia gama de antígenos, pueden causar respuestas inmunes indeseables en modelos de animales. La especificidad de anti-CD3, es la más extensamente estudiada, a pesar de que OKT3 es el único anticuerpo monoclonal inmunosupresor que ha sido comercializado. Otras especificidades han sido activamente investigadas en el humano, incluyendo anti-CD4, anti-CD 25 (receptor de interleucina 2), anti-LFA-1 y anti-ICAM-1 (moléculas de adhesión). En algunos casos, los anticuerpos han sido acoplados a toxinas. Los resultados obtenidos en modelos experimentales, han causado expectativas, al mostrar que algunos de estos anticuerpos monoclonales pueden inducir inmunosupresión altamente selectiva (18). Ensayos clínicos preliminares, confirmaron la eficacia de los anticuerpos monoclonales en enfermedades autoinmunes y trasplantes. Varios de los anticuerpos probados, pueden mitigar respuestas hiperagudas mediadas por células T, que resisten agentes químicos inmunosupresores.

Más importantemente, varios anticuerpos han sido capaces de mostrar inducción a la tolerancia, tanto en aloinjertos como en autoinmunidad, en modelos de roedores. De tal manera que, al usar anti-CD4 y anticuerpos monoclonales de anti-adhesión molecular, es posible inducir sobrevida a largo plazo, de aloinjertos de piel, más allá del tiempo de sobrevida proporcionada por la inmunosupresión convencional. Similarmente, usando ciclos cortos de anti-CD3 y anticuerpos anti-CD4, se pueden inducir remisiones a largo plazo de enfermedades autoinmunes, tales como la diabetes mellitus insulino dependiente (19). Tal inducción a la tolerancia no ha sido lograda en humanos, con las terapias inmunosupresoras convencionales (19).

Las aplicaciones potenciales de esta inmunosupresión selectiva son enormes, tanto para trasplante de órganos como trasplante de médula ósea, para enfermedades autoinmunes de diversos grados y, posiblemente (si no aparecen regímenes de anticuerpos tolerogénicos no tóxicos) para alteraciones alérgicas o vasculíticas, así como sensibilización de anti células rojas. Interesantemente, algunos de los protocolos de inducción a tolerancia, no requieren de conocimiento de los antígenos (alergenos o autoantígenos). Alternativamente, cuando el alérgeno es conocido, se podría considerar el uso de anticuerpos monoclonales antiantígeno (19).

Los anticuerpos monoclonales inmunosupresores, contribuirán indudablemente a las opciones terapéuticas contra las enfermedades inmunes y el rechazo de trasplantes, pero su papel preci-

so, todavía no está bien definido (17).

Los anticuerpos monoclonales pueden hacer posible el tratamiento de la artritis reumatoide con inmunoterapia selectiva. Estos anticuerpos pueden ser dirigidos directamente contra varios blancos, tales como antígenos activadores de linfocitos, citoquinas o subpoblaciones de linfocitos (principalmente CD4), involucrados en la patogénesis de la enfermedad. Estudios abiertos recientes, han demostrado la posibilidad y seguridad de estos métodos terapéuticos, pero el número de pacientes estudiados sigue siendo bajo y los resultados clínicos, biológicos e inmunológicos varían considerablemente en importancia y duración, sin remisión. No hay un factor predictivo de respuesta que pueda producirse de estos estudios. El origen murino de estos anticuerpos monoclonales, expone al riesgo frecuente de inmunización, lo cual puede interferir con la efectividad y seguridad de un segundo tratamiento. Algunas posibilidades pueden ya ser contempladas, incluyendo potencialización de los anticuerpos monoclonales al acoplarlos con un agente citotóxico (anti-CD5 + ricino), o bien, con la "humanización" de los anticuerpos monoclonales murinos (anti CD-4 quiméricos), reduciendo el riesgo de inmunización. De ahí que, son indispensables ensayos clínicos controlados, para evaluar el valor verdadero, de estos métodos terapéuticos en la artritis reumatoide (20).

### Enfermedades infecciosas:

La prevención y el tratamiento de las enfermedades infecciosas está esencialmente basado, en el uso de vacunas e inmunoglobulinas, para la inmunización pasiva y, en productos químicos (antibióticos y agentes antivirales), con fines terapéuticos. A pesar de su gran éxito, es justo reconocer las limitaciones presentes de su uso: un buen ejemplo de ésto, lo constituye el problema importante que representa el SIDA.

Varios anticuerpos monoclonales antibacterianos (grupo-específicos o especie-específicos), han demostrado curar infecciones letales en roedores, lo cual podría ser de utilidad en ciertas condiciones, como por ejemplo, el shock endotóxico, donde no se dispone de una terapia inmediatamente activa.

La prevención de un número de infecciones virales (sin una vacuna correspondiente), pueden además ser consideradas en varias enfermedades, en las cuales, la terapia pasiva con anticuerpos, ha tenido efectos benéficos (17,18).

Los pacientes agamaglobulinémicos, padecen infecciones bacterianas recurrentes a nivel pulmonar, meningitis y bacteremias. Las infecciones virales no son más severas en estos pacientes, que en los individuos sanos, lo cual sugiere que las células T son la defensa inicial más importante, pero cuando la inmuni-

dad se encuentra debilitada, pueden ocurrir múltiples ataques de varicela o rubeola. Estas observaciones sugieren que los anticuerpos deben ser capaces de prevenir infecciones bacterianas o virales. Realmente, la administración regular de inmunoglobulinas humanas purificadas, provee una buena protección para los pacientes con agamaglobulinemia, hipogamaglobulinemia o disamaglobulinemia (17).

Las preparaciones con inmunoglobulinas humanas policlonales han sido usadas durante mucho tiempo para tratar y prevenir varias enfermedades virales, incluyendo Hepatitis A y B, varicela, rubeola e infección por citomegalovirus. A pesar de los antecedentes, es sorprendente que los anticuerpos monoclonales antibacterianos y antivirales, han sido poco usados en la práctica clínica. Esto puede cambiar pronto, debido a que varios anticuerpos monoclonales antibacterianos y antivirales, se encuentran bajo desarrollo, para pruebas en humanos. Por ejemplo, versiones humanizadas de anticuerpos monoclonales para virus del herpes simple y el virus sincitial respiratorio, han sido preparados y, anticuerpos humanos para el VIH, han sido aislados para tamizaje (17).

Los anticuerpos monoclonales antivirales, pueden bloquear el ataque y penetración de los virus, opsonizar virus y células infectadas por virus, para fagocitosis o citotoxicidad dependiente de anticuerpos y mediar lisis del complemento de partículas virales desarrolladas o de células infectadas. Combinaciones de anticuerpos monoclonales probablemente tendrán mayores efectos benéficos, que reactivos solos (17).

Cuando consideramos cuales de las enfermedades bacterianas más importantes del hombre, pueden ser blanco de la terapia con anticuerpos monoclonales humanos, el primer requerimiento más obvio, es la demostración de la protección mediada por anticuerpos.

Las enfermedades bacterianas, candidatas ideales para demostrar la eficacia de los anticuerpos monoclonales humanos, no deben tener una vacuna efectiva, deben causar un número significativo de nuevos casos cada año y deben presentar ineficacia quimioterápica o exhibir resistencia a drogas. Más aún, aquellas enfermedades bacterianas, en las cuales, la eficacia de la inmunoglobulina humana ha sido demostrada, deben ser las candidatas más lógicas para la profilaxis/terapia con anticuerpos monoclonales humanos.

Examinando los datos disponibles en el presente, concernientes a anticuerpos monoclonales y linfoquinas en contra de bacterias o sus productos, encontramos que muchos han sido descritos y discutidos por pioneros en el campo y cuyos resultados, están aún por desarrollarse en un futuro cercano.

Prácticamente todos los estudios se encuentran en etapas iniciales. Los anticuerpos monoclonales han sido generados y ca -

racterizados. Algunos han sido aplicados en estudios serológicos limitados y sobrevivientes epidemiológicos. Procedimientos diagnósticos han sido mejorados mediante su uso. En este punto, es claro que un esfuerzo continuo debe realizarse, para generar más pruebas monoclonales y para incrementar la precisión, sensibilidad y resolución de métodos inmunodiagnósticos. Es pertinente mencionar aquí, que el uso de anticuerpos monoclonales antiinmunoglobulina, como segundo anticuerpo marcado con radioisótopos (o enzimas o moléculas fluorescentes), para medir anticuerpos monoclonales antibacterianos, vendrán a generalizarse probablemente. De tal manera que, los segundos anticuerpos monoclonales, incrementarán prometedoramente, la sensibilidad y especificidad de radioinmunoensayos, inmunoensayos enzimáticos y de la inmunofluorescencia indirecta. En cambio, estos agentes contribuirán al mejoramiento de métodos para medir anticuerpos antibacterianos en suero, en otros fluidos biológicos y en sobrenadantes de cultivos. Similarmente, métodos para detectar bacterias y antígenos relacionados por sí mismos en fluidos biológicos, exudados patológicos, medios de cultivo y otros materiales tales como agua, sedimentos, fósiles y alimentos, serán desarrollados usando anticuerpos monoclonales, como herramientas principales (21).

Considerando la prevención y el tratamiento de enfermedades infecciosas, los anticuerpos monoclonales contra bacterias, han mostrado ya su valor con propósitos diagnósticos. Estos anticuerpos han probado además, su utilidad para diseccionar mosaicos antígenicos de bacterias y antisueros, en sus componentes, poblaciones de antígenos y anticuerpos, respectivamente. De esta forma, los antígenos que presentan anticuerpos protectores, han sido identificados, como el primer paso en la preparación de vacunas altamente específicas. Más aún, la habilidad para separar del suero de los pacientes sus poblaciones de anticuerpos, ha abierto nuevas puertas, identificando aquellos anticuerpos de valor diagnóstico y pronóstico y/o, a aquellos dotados de capacidad protectora. Así, los antígenos presentados por los primeros, pueden ser utilizados para ensamblar kits diagnósticos, los antígenos presentados por los anticuerpos protectores pueden ser usados en la preparación de vacunas o para obtener anticuerpos en gran escala para seroterapia (21).

Las linfoquinas producidas por líneas celulares clonadas (híbridomas y clonas no híbridas), probablemente, estarán disponibles más comúnmente, para probar su capacidad protectora en contra de infecciones. El producto de estos productos monoclonales es prometedor (21).

La precisión de los anticuerpos como herramientas y la calidad de su información, incrementa su especificidad. La determinación de su especificidad fina (molecular) y su extensión experimental, la cual se explica por la composición y estructura de los determinantes reconocidos por cada anticuerpo, constituye por lo tanto, una labor importante, para el uso de los anti-

cuerpos monoclonales en bacteriología (21).

La inmunoquímica molecular, por medio de anticuerpos monoclonales en contra de una variedad de estructuras bacterianas (enzimas, cofactores, receptores, componentes de la membrana, etc.), continuará para dilucidar la relación entre la estructura y la función. Una combinación de genética, ingeniería genética e inmunoquímica, con anticuerpos moleculares, acelerará el progreso para entender las vías metabólicas, los mecanismos de transporte y otras características fisiológicas y bioquímicas de la bacteria (21).

A pesar de que los problemas asociados con los anticuerpos monoclonales humanos se resuelvan, varios problemas adicionales ensombrecen el horizonte. Los más notables entre estos, son los problemas técnicos en su producción. La producción a gran escala de hibridomas de ratón es a menudo cumplida, por el desarrollo de éstas células in vivo en ascitis tumoral. Los hibridomas humanos, por otro lado, no pueden producirse en ratones debido a problemas de histocompatibilidad y más acertadamente, no pueden ser producidos en humanos. A pesar de que los hibridomas humanos han sido producidos en ratas y ratones con déficit de células T, estos animales inmunodeficientes son difíciles de mantener (22).

Los mecanismos de defensa del huésped en contra de patógenos bacterianos, involucran una respuesta inmune íntegra, con los anticuerpos jugando un papel principal. La inducción de protección con anticuerpos antibacterianos por inmunización activa, no siempre es posible, particularmente en pacientes inmunodeprimidos o inmunocomprometidos. La inmunización pasiva con anticuerpos preformados, ofrece una alternativa, pero generalmente, usando preparaciones de globulina sérica inmune, son difíciles para control de calidad y usualmente contienen pequeñas cantidades de anticuerpos protectores en relación al total de las inmunoglobulinas. Los anticuerpos monoclonales humanos en contra de patógenos bacterianos seleccionados, podrían resolver estos problemas. Sin embargo, el progreso en los anticuerpos monoclonales humanos, ha sido lento, debido a la inestabilidad de los hibridomas humano-humano. Un estudio más crítico de las células somáticas genéticas de sincariontes mieloma humano-linfocito humano pueden resolver esta impresión. Una vez que el anticuerpo estable-secretante de hibridomas humanos es producido, los problemas de producción a gran escala y seguridad del producto, deben tratarse. El potencial de los anticuerpos monoclonales humanos antibacteria, como terapia sola o como adyuvantes con la mayoría de las quimio terapias convencionales, es grande, pero la realización de su potencial puede requerir muchos más años de investigación, pudiendo ser determinada al final por los economistas y no por los científicos (22).

## Estados tóxicos:

El uso de anticuerpos monoclonales para tratar el choque séptico, ha sido revisado recientemente. La endotoxina, un componente lipopolisacárido de la pared celular bacteriana, daña el endotelio vascular, desencadenando una cascada de eventos que lleva al choque séptico. Debido a que el antígeno blanco es intravasular, anticuerpos monoclonales IgM pueden ser usados. HA-1A, un anticuerpo monoclonal humano IgM antiendotoxina, redujo la mortalidad a 28 días en un 39% en 105 pacientes con bacteremia por gramnegativos. Sin embargo, el estudio inicial ha sido seriamente criticado y un segundo ensayo clínico de HA-1A, placebo controlado, ha sido recomendado para determinar si el anticuerpo debe ser usado ampliamente. El factor de necrosis tumoral es uno de los mediadores centrales del choque séptico y, anticuerpos monoclonales contra el mismo, han mostrado efectos protectores en modelos animales. Un ensayo clínico de fase I de uno de los anticuerpos monoclonales contra el TNF-alfa, confirmó su seguridad, pero su eficacia aún no se ha demostrado en humanos. Junto a los ejemplos obvios de tétanos y difteria, otros estados tóxicos, los cuales pueden ser sujetos a terapia con anticuerpos monoclonales, incluyen sobredosis de drogas, envenenamientos químicos, mordedura de serpientes y picadura de arañas (20).

A la fecha, dos anticuerpos monoclonales antiendotoxina han sido producidos y sujetos a pruebas clínicas extensas. El HA-1A, un anticuerpo monoclonal humano, derivado de la línea celular de inmunoglobulina M (IgM), que contiene únicamente un pequeño fragmento de proteína murina, fue probado en un ensayo. El HA-1A redujo significativamente la mortalidad en pacientes con sepsis y bacteremia por gram negativos y produjo mejor resolución de la morbilidad que en los pacientes placebo controlados. El E5, un anticuerpo IgM producido completamente via tecnología anticuerpo monoclonal murina, fué evaluado en dos estudios. Los resultados del primer ensayo mostraron que el E5 redujo la mortalidad significativamente, en pacientes con infección por Gram negativos, los cuales no se encontraron en choque refractario. En contraste, los resultados del segundo ensayo no mostraron ninguna reducción significativa en la mortalidad entre los pacientes con infección por gram negativos que recibieron E5. Sin embargo, la mayor resolución de la morbilidad ocurrió más frecuentemente entre los receptores de E5 en ambos ensayos. El HA-1A y el E5 fueron bien tolerados en los ensayos. El costo de la terapia es de US \$3000 a US\$4000 por curso de tratamiento. Los anticuerpos monoclonales antiendotoxina representan el siguiente paso para reducir en forma importante la morbilidad en las infecciones por gram negativos. Sin embargo, las implicaciones financieras del uso de HA-1A y de E5 son enormes y los criterios de selección de pacientes para la administración de estos productos deben ser desarrollados (23).



## Cáncer (tumores sólidos):

Los anticuerpos monoclonales contra neoplasias han sido usados tanto para el diagnóstico por imágenes como para el tratamiento. Hay un gran número de posibles antígenos blanco, los cuales se engloban en varias categorías. A excepción de unos cuantos casos, antígenos específicos de un tumor único, no han sido identificados y los estudios se han centrado en antígenos blanco que están presentes en mayor o menor grado, en algunos tejidos normales del huésped. Ejemplos de éstos, incluyen, antígenos oncofetales, tales como el antígeno carcinoembrionario y la alfafetoproteína, receptores de factor de crecimiento epidérmico, antígenos de carbohidratos y componentes de la matriz extracelular, tales como la mucina. Radioinmunoconjugados, se acumulan en depósitos tumorales, lo suficientemente bien, como para producir imágenes adecuadas, aunque las imágenes no son todavía lo suficientemente serias, como para cambiar los métodos por imágenes convencionales tales como la tomografía computada. El tratamiento del cáncer con anticuerpos monoclonales, dista mucho de ser decepcionante. Estudios iniciales usaron anticuerpos monoclonales murinos inmunogénicos, los cuales no abastecían las funciones efectoras humanas. Humanizando estos anticuerpos monoclonales o ligándolos a radioisótopos, toxinas y drogas (lo cual puede incrementar la inmunogenicidad), ha tenido un impacto discreto sobre su eficacia terapéutica y puede producir toxicidad severa (17,18).

Un factor limitante importante es la incapacidad de infundir anticuerpos monoclonales para alcanzar las células blanco. Los anticuerpos monoclonales tienen un buen acceso a la superficie del tumor, así como a la superficie de los vasos sanguíneos de un depósito tumoral relativamente permeable a macromoléculas, pero las ramas de estos vasos, las cuales penetran al parénquima tumoral, no lo son. Una vez sobre la superficie, sin embargo, se encuentran con una pared impenetrable de células tumorales, unidas entre sí por uniones intercelulares estrechas, lo cual hace que el acceso a regiones profundas del parénquima, sea pobre (17,18).

La toxicidad de los anticuerpos monoclonales anticáncer es variable. Con anticuerpos monoclonales murinos no modificados: fiebre, rigidez, náusea y vómitos, son comunes después de la dosis inicial; inmediatamente, reacciones de hipersensibilidad pueden ocurrir; y síntomas secundarios a complejos inmunes circulantes se ven a veces después de tratamientos prolongados. Los radioinmunoconjugados usualmente causan toxicidad apreciable sobre la médula ósea normal y las inmunotoxinas pueden causar síndrome de debilidad vascular (17,18).

La terapia enzimática prodroga, dependiente de anticuerpos (ADEPT) es un prospecto de investigación prometedor. Con esta técnica, un conjugado anticuerpo-enzima es administrado y este localiza los depósitos tumorales.

Después de varios días, durante los cuales, el anticuerpo monoclonal no ligado específicamente, es depurado, una prodroga activa es administrada. La prodroga es convertida por el anticuerpo monoclonal ligado a enzima, en activa, sobre los depósitos tumorales; la droga tumoricida es lo suficientemente pequeña para permeabilizar las regiones profundas del tumor.

Los anticuerpos humanos y humanizados con mejor afinidad y especificidad, aparentemente serán utilizados en mayor cantidad en el futuro. El uso de mezclas de anticuerpos monoclonales, pueden dar mejores resultados que anticuerpos monoclonales solos (17,18).

### Enfermedades hematológicas malignas:

El tratamiento con anticuerpos monoclonales para las enfermedades hematológicas malignas, ha sido más exitoso que para las neoplasias sólidas.

La actividad en contra de enfermedades de la médula ósea y del bazo, ha sido notable, con respuesta menos adecuada de enfermedad nodal. Una posible explicación a esto, es que la circulación sinusoidal de los órganos responsables, es fácilmente permeable por las inmunoglobulinas. Además, la médula ósea y el bazo son ricos en células efectoras del huésped, que pueden reconocer y destruir blancos cubiertos por anticuerpos monoclonales (17,18).

Anticuerpos monoclonales murinos anti-idiotípicos han sido cultivados en contra de inmunoglobulinas únicas de superficie y receptores de células T, expresadas respectivamente sobre células malignas B y T. Los resultados del tratamiento son halagadores, pero los anticuerpos monoclonales deben ser hechos individualmente para cada paciente (17,18).

Los anticuerpos monoclonales, inevitablemente destruyen algunos linfocitos normales, pero estos son regenerados a partir de las células progenitoras, las cuales no son atacadas. Inmunosupresión pasajera puede relacionarse con los anticuerpos, sin embargo, esto tiende a ser problemático. Inmunotoxinas e inmunocombinados han mostrado actividad en contra del linfoma, pero comparación directa o mecanismos efectoros alternativos de un anticuerpo monoclonal único, no han sido realizados todavía (18).

### Otras aplicaciones:

Los anticuerpos monoclonales han sido desarrollados para el diagnóstico por imágenes de síndromes de isquemia-reperusión (infarto del miocardio), trombosis venosa profunda o arterial (antifibrina) y focos de infección o inflamación (17).

Anticuerpos monoclonales antirhesus, han sido diseñados para -  
tratar enfermedades hematológicas rhesus y, anticuerpos mono -  
clonales antiplaqueta para la prevención de trombosis intravas -  
cular (17,18).

## CONCLUSIONES.

Es imposible reflejar en este corto espacio la enorme repercusión que ha tenido la aplicación de los anticuerpos monoclonales en el terreno de la experimentación biológica. Por un lado han permitido realizar un avance espectacular en la identificación y el aislamiento de receptores presentes en muy pequeña cantidad o de forma fugaz, sobre las membranas celulares. En este terreno han llegado a ser un instrumento imprescindible. Por otra parte, han facilitado la purificación y análisis de numerosas moléculas de interés biológico por cromatografía de afinidad, permitiendo un control preciso de las condiciones de absorción y elución. Finalmente, en todos los procesos que implican diferenciaciones celulares, se han permitido planteamientos experimentales que en épocas pasadas eran prácticamente imposibles.

Los anticuerpos monoclonales están encontrando aplicación en un número cada vez mayor de pruebas diagnósticas de laboratorio. No solamente están contribuyendo a mejorar la seguridad y reproducibilidad de simples pruebas basadas en la aglutinación de partículas (latéx, hematíes, etc), sino que permiten diseñar mejores inmunoensayos para la determinación cualitativa o cuantitativa de numerosos parámetros de interés clínico (pruebas de embarazo, ensayo de hormonas, de isoenzimas, antígenos víricos o bacterianos). De modo especial han facilitado la realización de inmunoensayos inmunométricos basados en doble anticuerpo que no eran posibles con sueros policlonales.

Merece especial atención la aplicación de anticuerpos monoclonales a la detección y la localización histológica de antígenos relacionados con tumores malignos y se observa un creciente interés en la aplicación de anticuerpos monoclonales debidamente marcados para la localización in vivo de tejidos tumorales.

La aplicación de los anticuerpos monoclonales a la clínica humana es un campo de enormes posibilidades, que no ha hecho más que empezar.

Existen numerosos ejemplos de aplicaciones terapéuticas más o menos experimentales que sin duda, aumentarán rápidamente, a medida que progresen las técnicas de inmunización in vitro y de obtención de anticuerpos monoclonales de origen humano.

Los anticuerpos monoclonales de origen humano sin duda desplazarán paulatinamente las globulinas específicas obtenidas por fraccionamiento de plasma humano.

También se contempla la aplicación de anticuerpos monoclonales dirigidos a receptores específicos de hormonas o neuroreceptores.

En el terreno de la oncología hay grandes esperanzas de poder utilizar anticuerpos monoclonales para la destrucción de tumores.

res malignos. Merecen especial interés las inmunotoxinas obtenidas combinando agentes tóxicos con anticuerpos monoclonales.

Durante el último siglo hemos visto tres generaciones de anticuerpos terapéuticos: anticuerpos policlonales de origen animal, anticuerpos monoclonales de roedores y ahora, anticuerpos humanizados. Se anticipa que el uso de tecnologías de "selección de repertorios" para hacer anticuerpos humanos y fragmentos, abastecerán a la próxima generación. De tal manera que, en un tiempo prudente, parece ser que los anticuerpos humanizados, mejorarán su uso clínico para el tratamiento de varias enfermedades y la experiencia obtenida, dará validéz al diseño y formulación de la siguiente generación de anticuerpos terapéuticos (18).

## B I B L I O G R A F I A .

- 1.- Llewelyn M.B., Hawkins R.E., Russell S.J., MONOCLONAL ANTIBODIES IN MEDICINE: DISCOVERY OF ANTIBODIES. *BMJ* 1992;305:1269-72
- 2.- Waldmann H., Cobbold S., THE USE OF MONOCLONAL ANTIBODIES TO ACHIEVE IMMUNOLOGICAL TOLERANCE. *Immunol Today* 1993;14(6):247-51
- 3.- Gronski P., Seiler S.R., Schwick H.G., DISCOVERY OF ANTITOXINS AND-- DEVELOPMENT OF ANTIBODY PREPARATIONS FOR CLINICAL USE FROM 1890 TO 1990. *Mol Immunol* 1991;28:1321-32
- 4.- Berek C., Milstein C., MUTATION DRIFT AND REPERTOIRE SHIFT IN THE MA TURATION OF THE IMMUNE RESPONSE. *Immunol Rev* 1987;96:23-41
- 5.- Dick H.M., MONOCLONAL ANTIBODIES IN CLINICAL MEDICINE. *Br Med J* 1985; 291:762-64
- 6.- Köhler G., Milstein C., CONTINUOUS CULTURES OF FUSED CELLS SECRETING ANTIBODY OF DEFINED SPECIFICITY. *Nature* 1975;256: 495-97
- 7.- Milstein C., ANTICUERPOS MONOCLONALES. *Investigación y Ciencia* 1980; 51:38-48
- 8.- Hawkins R.E., Llewelyn M.B., Russell S.J., MONOCLONAL ANTIBODIES IN MEDICINE: ADAPTING ANTIBODIES FOR CLINICAL USE. *Br Med J* 1992;305: 1348-51
- 9.- Waldmann T.A., MONOCLONAL ANTIBODIES IN DIAGNOSIS AND THERAPY. *Science* 1991;252:1657-62
- 10.- Benjamin R.J., Waldmann H., INDUCTION OF TOLERANCE BY MONOCLONAL ANTI BODY THERAPY. *Nature* 1986;320:449-51
- 11.- Bach J.F., Fracchia G.N., Chatenoud L., SAFETY AND EFFICACY OF THERA PEUTIC MONOCLONAL ANTIBODIES IN CLINICAL THERAPY. *Immunol Today* 1993; 14(9):421-25
- 12.- Riechmann L., Clark M., Waldmann H., Winter G., RESHAPING HUMAN ANTI BODIES FOR THERAPY. *Nature* 1988;332:323-27
- 13.- Queen C., Schneider W.P., Selick H.E., Payne P.W., A HUMANIZED ANTI- BODY THAT BINDS TO THE INTERLEUKIN 2 RECEPTOR. *Proc Natl Acad Sci* - 1989;86:10029-36
- 14.- Russell S.J., Llewelyn M.B., Hawkins R.E., MONOCLONAL ANTIBODIES IN MEDICINE: PRINCIPLES OF ANTIBODY THERAPY. *Br Med J* 1992;305:1424-28
- 15.- Hiepe F., Volk H.D., Apostoloff E., Baehr R.V., TREATMENT OF SEVERE LUPUS ERYTHEMATOSUS WITH ANTI-CD4 MONOCLONAL ANTIBODY. *Lancet* 1991; 338: 1529-30

- 16.- Mathieson P.W., Cobbold S.P., Hale G., Clark M.R., Oliveira D.B.G., Lockwood C.M. et al., MONOCLONAL ANTIBODY THERAPY IN SYSTEMIC VASCULITIS. N Engl J Med 1990;323:250-54
- 17.- Spickett G.P., Misbah S.A., Chapel H.M., PRIMARY ANTIBODY DEFICIENCY IN ADULTS. Lancet 1991;337:281-84
- 18.- Horneff G., Bumester G.R., Emrich F., TREATMENT OF RHEUMATOID ARTHRITIS WITH AN ANTI-CD4 MONOCLONAL ANTIBODY. Arthritis Rheum 1991;34: -129-40
- 19.- Carpenter C.B., IMMUNOSUPPRESSION IN ORGAN TRANSPLANTATION. N Engl J Med 1990;321:1224-26
- 20.- Wendling D., Racadot E., MONOCLONAL ANTIBODIES IN THE TREATMENT OF RHEUMATOID ARTHRITIS. Presse Med 1992;21(36):1725-29
- 21.- Clark M., Cobbold S., Hale G., Waldmann H., ADVANTAGES OF RAT MONOCLONAL ANTIBODIES. Immunol Today 1983;4:100-101
- 22.- Jaffe I.A., NEW APPROACHES TO THE MANAGEMENT OF RHEUMATOID ARTHRITIS. J Rheumatol 1992;36P: 02-08
- 23.- Barriere S.L., Guglielmo B.J., GRAM-NEGATIVE SEPSIS, THE SEPSIS SYNDROME, AND THE ROLE OF ANTI-ENDOTOXIN MONOCLONAL ANTIBODIES. Clin Pharm 1992;11(3):223-35