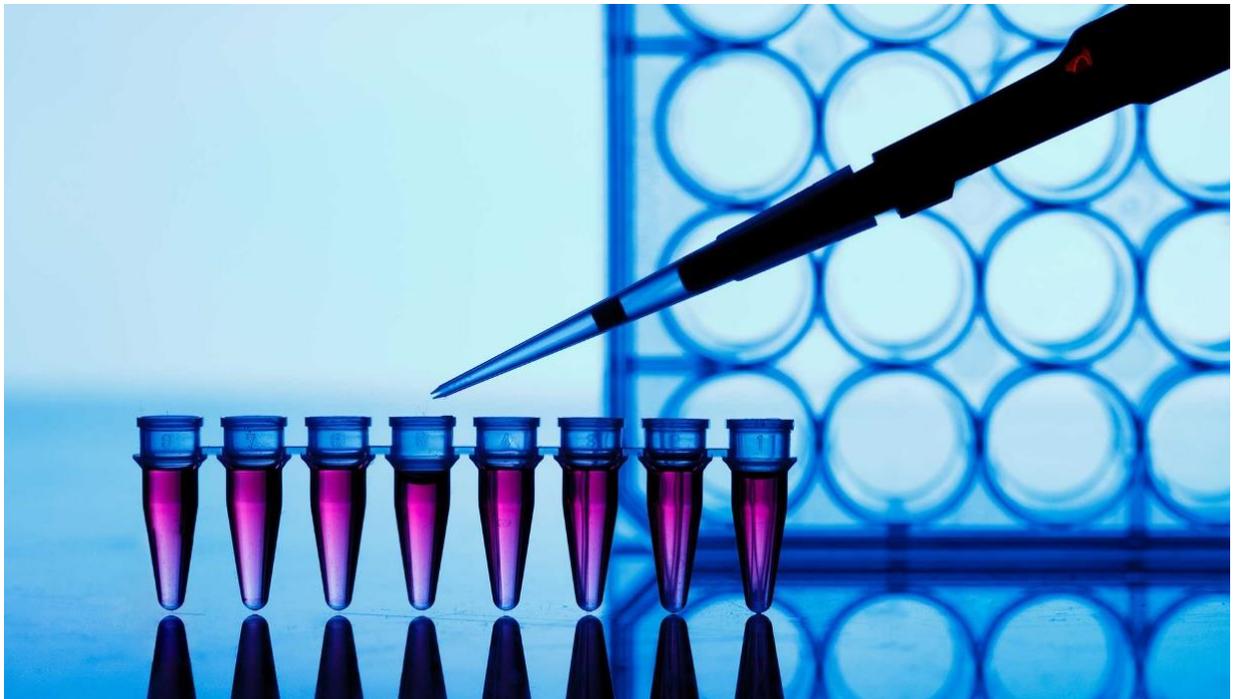


ANTICUERPOS MONOCLONALES TERAPÉUTICOS



Lucía Ruiz Viera

Tutor: Jose Manuel Siverio Expósito

Co-tutor: Ana Lancha Bernal

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Facultad de Ciencias de la Salud, Sección Farmacia

Dpto. de Bioquímica, Microbiología, Biología Celular y Genética

GRADO EN FARMACIA

Fecha: 16 de julio de 2018

ÍNDICE

1. Abstract / Resumen.
2. Introducción.
 - 2.1 Funcionamiento del Sistema Inmune.
 - 2.2 Inmunoglobulinas: Estructura y tipos
3. Métodos de obtención de anticuerpos monoclonales
 - 3.1 Generación de hibridomas.
 - 3.2 Otras estrategias de producción.
 - 3.3 Tecnología del ADN recombinante.
 - 3.3.1 Phague-Display
 - 3.3.2 Ribosomal-Display
 - 3.4 Mejora de las funciones efectoras de los Anticuerpos Monoclonales.
 - 3.5 Mejora de la eficacia de los Anticuerpos Monoclonales.
4. Aplicación en terapéutica
 - 4.1 Enfermedades autoinmunes
 - 4.2 Asma
 - 4.3 Cáncer
5. Mercado de anticuerpos monoclonales.
6. Conclusiones
7. Bibliografía

1. ABSTRACT

Monoclonal Antibodies have many applications today, both in biomedical research and in the diagnosis and treatment of numerous pathologies. This quality of the monoclonal antibodies is due to its high specificity and great affinity for the therapeutic target.

In the twentieth century, the production of polyclonal antibodies was limited due to its low specificity on therapeutic targets, causing a large number of rejections in patients. The appearance of the hybridoma technology in 1975, produces highly selective monoclonal antibodies and also allows modifying the structure of the immunoglobulins to improve their effectiveness, maintaining specificity against their therapeutic target.

To date, there are many of these biotechnological products on the market approved for commercialization. Others are in the research phase and are very useful for biomedicine and the pharmaceutical industry.

In short, monoclonal antibodies have been consolidated as biotechnological pharmaceuticals to treat diseases such as cancer, diseases, autoimmune, inflammatory and degenerative diseases that are very frequent in today's society.

However, we must take into account its limitations, among which are its high cost, the multiple tests required for its commercialization and the lack of targets to direct them.

1. RESUMEN

Los Anticuerpos Monoclonales tienen multitud de aplicaciones en la actualidad, tanto en investigación biomédica como en el diagnóstico y tratamiento de numerosas patologías. Esta cualidad de los anticuerpos monoclonales se debe a su alta especificidad y gran afinidad por la diana terapéutica.

En el siglo XX, la producción de anticuerpos policlonales quedaba limitada debido a su baja especificidad sobre las dianas terapéuticas, provocando un gran número de rechazos en pacientes. La aparición de la tecnología del hibridoma en 1975, consigue producir anticuerpos monoclonales altamente selectivos y que además permite modificar la estructura de las inmunoglobulinas para mejorar su eficacia, manteniendo la especificidad contra su diana terapéutica.

A día de hoy, hay multitud de estos productos biotecnológicos en el mercado aprobados para su comercialización. Otros están en fase de investigación y son de gran utilidad para la biomedicina y la industria farmacéutica.

En definitiva, los anticuerpos monoclonales se han consolidado como productos farmacéuticos biotecnológicos para tratar enfermedades como el cáncer, enfermedades, autoinmunes, inflamatorias y degenerativas que son muy frecuentes en la sociedad actual.

No obstante, debemos tener en cuenta sus limitaciones, entre las que se encuentran su elevado coste, los múltiples ensayos que requieren para su comercialización y la falta de dianas a las que dirigirlos.

2. INTRODUCCIÓN

Nuestro sistema inmune tiene como objetivo neutralizar y eliminar sustancias que no sean reconocidas por él (antígenos). Para ello consta de numerosos tipos de células implicadas en la respuesta inmune y que se encargan, cada una de ellas, de diferentes tareas.

Para evitar el acceso de patógenos, el organismo ha desarrollado una serie de mecanismos:

- **Barreras defensivas externas.** Actúan en primera línea y son: la piel (barrera física), secreciones internas como moco, lágrimas y saliva (barreras químicas) o la flora autóctona bacteriana (barrera biológica).
- Si el antígeno ha logrado superar estas barreras entra en funcionamiento la **inmunidad innata o natural**. Este tipo de respuesta es inespecífica y se adquiere de manera natural y congénita. Produce una respuesta rápida y local ante la presencia de cualquier sustancia extraña y no varía su intensidad ante infecciones repetidas (no tiene memoria). Sus componentes son: células natural killer o NK (reconocen y destruyen células extrañas), interferones (proteínas que inhiben la replicación viral), complemento (complejos de proteínas que inducen la lisis celular y atraen fagocitos) y fagocitos como neutrófilos o macrófagos (degradan antígenos) entre otros.
- Si esta segunda línea de defensa es insuficiente para evitar la infección se activa la **inmunidad adaptativa, que es la respuesta inmune** y es específica ante un determinado antígeno. Tiene memoria ante infecciones repetidas y su respuesta es cada vez es más potente y rápida. Las células encargadas de desencadenar la respuesta inmune son los linfocitos B y los linfocitos T. Estas células pueden localizarse en órganos como los ganglios linfáticos y bazo o en la médula ósea.

La inmunidad adaptativa se divide a su vez en inmunidad humoral formada por linfocitos B que reconocen y se unen a los antígenos de forma específica y la inmunidad celular que está mediada por los linfocitos T y las células NK y se encargan de eliminar las células dañadas. (1)

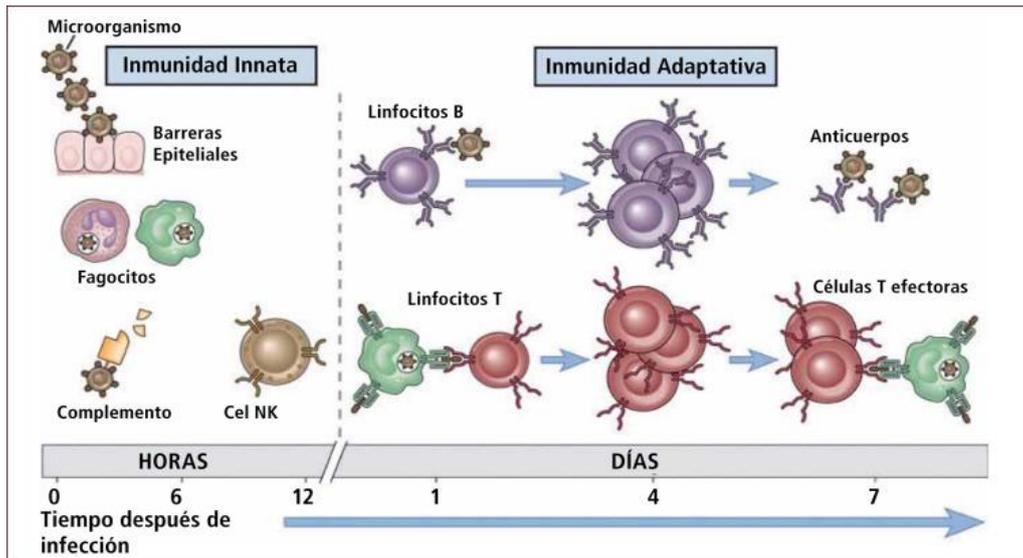


Figura 1. Respuesta inmune. Adaptada de la original de la página ars.els-cdn.com

Los linfocitos B secretan **anticuerpos**, que se unen de forma específica cuando detectan la presencia de una sustancia extraña.

Los anticuerpos son una familia de glicoproteínas llamadas **inmoglobulinas** (Ig) que se encuentran en sangre, linfa y en las secreciones corporales y tienen un papel muy importante en la respuesta inmune.

ESTRUCTURA DE LAS Ig:

Los anticuerpos constan de dos cadenas polipeptídicas pesadas (H) (masa molecular de 50 kDa aproximadamente) y dos cadenas ligeras (L) (25 kDa) unidas mediante cuatro puentes disulfuro formando una "Y". Dos de los enlaces unen las cadenas pesadas y los otros dos unen a estas cada una de las cadenas ligeras (región bisagra). (2)

Estas cadenas constan de regiones variables (VL y HL) y de regiones constantes (CL y CH) que permite a las inmunoglobulinas reconocer multitud de sustancias y a su vez ser específicas para cada antígeno. (2)

A su vez, los anticuerpos tienen dos regiones funcionales:

- Dos regiones Fab (*Fragment antigen binding*): reconoce y se une al antígeno. Tiene dominios constantes y variables.
- Una región Fc (*Fragmento cristalizante*): implicada en las funciones de las Ig y en su vida media en sangre. Solo contiene regiones constantes. (2)

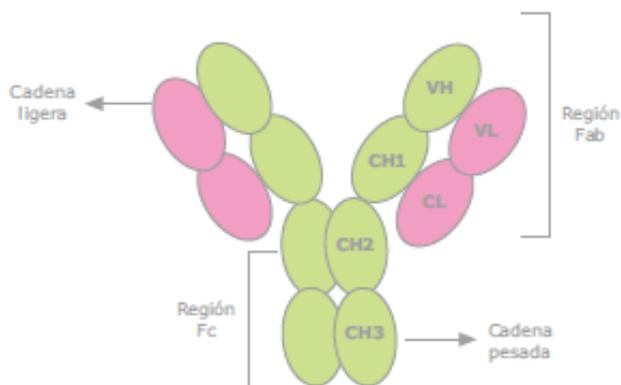


Figura 2. Estructura de un anticuerpo. Adaptada de la original de *Anticuerpos monoclonales terapéuticos: informe de vigilancia tecnológica (Genoma España)*.

TIPOS DE INMUNOGLOBULINAS:

Existen cinco tipos de Ig y se diferencian en sus funciones, localización y estructura. Sus características más importantes son:

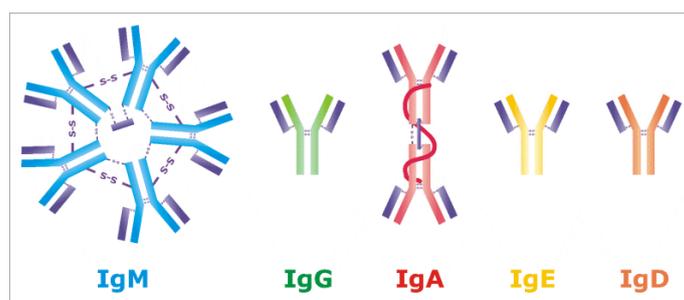


Figura 3. Tipos de Ig. Adaptada de la original de la página [docsity.com](https://www.docsity.com)

- Ig G: Son las más abundantes en el organismo (75%). Circulan en sangre. Neutraliza y hace que precipiten los antígenos (previene la septicemia). Son las únicas capaces de atravesar la placenta. (3, 4)
- Ig M: Responden en primer lugar. Activan el complemento y neutralizan y hacen precipitar los antígenos. (3, 4)
- Ig A: Protegen las superficies epiteliales (boca, nariz, vagina, etc.) neutralizando y precipitando antígenos. Presentes en leche materna. (3, 4)
- Ig E: mediador en procesos alérgicos. (4)
- Ig D: activación de linfocitos B. (4)

Las regiones donde se produce el reconocimiento de un epítipo por parte del anticuerpo se denomina región CDR (*Complementary Determining Regions*) y se localizan en las regiones variables de las cadenas ligeras y pesadas. Esta región confiere a las inmunoglobulinas especificidad y diversidad. (4)

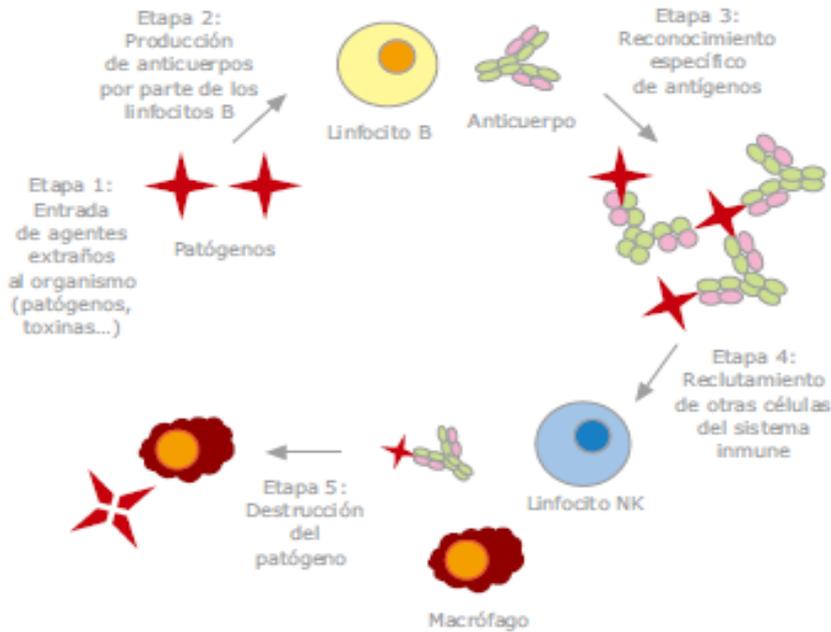


Figura 4. Proceso de eliminación de antígenos. Adaptada de la original de Anticuerpos monoclonales terapéuticos: informe de vigilancia tecnológica.

Los anticuerpos realizan una doble acción en el organismo. Por un lado, reconoce de forma específica a un antígeno induciendo la respuesta inmune (etapa 3) y por otro lado participa en el reclutamiento de diferentes células que se encargarán de la destrucción de la sustancia invasora (etapa 4). (4)

Los **antígenos** suelen ser proteínas que secretan o se localizan en la superficie de virus, hongos o bacterias. También pueden ser toxinas u otras sustancias químicas. Las zonas que son reconocidas por el sistema inmune se conocen como determinantes antigénicos o epítomos. (2)

Un único antígeno puede poseer diferentes epítomos y por lo tanto activar la producción de distintas Ig que son específicas para cada uno de ellos. Es decir, se secretarán diferentes clones de linfocitos B con capacidad de reconocer estos antígenos diferentes. Estas moléculas se denominan **anticuerpos policlonales**. (4)

Los **anticuerpos monoclonales** reconocen un único epítomo y se originan de un solo clon de linfocito B. (4)

Los anticuerpos monoclonales se empezaron a emplear en terapéutica en 1986 cuando la FDA aprobó el primer anticuerpo monoclonal utilizado en el tratamiento del rechazo de trasplante de riñón. Posteriormente se descubrieron

otras utilidades como la detección de células tumorales o la inhibición de procesos inflamatorios. (4)

A continuación, veremos los métodos de obtención de estos anticuerpos, sus aplicaciones terapéuticas y los cambios que podemos hacer para mejorar su efectividad.

3. MÉTODOS DE OBTENCIÓN

Los avances en la investigación de anticuerpos monoclonales para el tratamiento de diferentes enfermedades como son el cáncer o enfermedades inflamatorias se deben a la mejora en las tecnologías de producción y a la fragmentación de anticuerpos (mediante la tecnología del ADN recombinante se obtienen fragmentos de anticuerpos que contienen solamente la región Fab dotándolos de mayor accesibilidad) y a los avances en Biología Molecular que permiten aislar dianas terapéuticas específicas.

La producción de anticuerpos monoclonales se ve limitada por la dificultad de seleccionar dianas específicas porque en muchas ocasiones se desconocen las rutas bioquímicas implicadas en los mecanismos causantes de la enfermedad.

Sabemos que, en humanos, los anticuerpos son secretados por los linfocitos B ante la presencia de una sustancia extraña. De la misma manera ocurre en animales. Así, los primeros anticuerpos monoclonales aislados para su uso en humanos fueron los **murinos** obtenidos de ratones, ratas o conejos mediante la técnica del hibridoma que se describirá a continuación. (4)

3.1 GENERACIÓN DE HIBRIDOMAS

George Köhler y Cesar Milstein desarrollaron esta técnica en 1975 mediante la cual se podían aislar y producir anticuerpos monoclonales.

El primer paso es inyectar al animal el antígeno para después extraer los anticuerpos producidos contra el (se encuentra en el suero del animal). Estas inmunoglobulinas tienen una vida media corta en cultivo *in vitro* por lo que se asociaron a células inmortales de mieloma, resultando híbridos denominados **hibridomas**. Los hibridomas pertenecen a un mismo clon, es decir, son anticuerpos monoclonales.

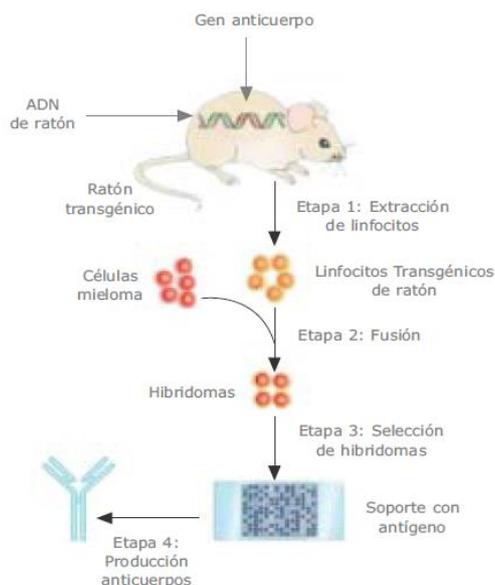


Figura 5. Tecnología del hibridoma. Adaptada de la original de *Anticuerpos monoclonales terapéuticos: informe de vigilancia tecnológica (Genoma España)*.

Sin embargo, el uso de estas moléculas, presentan problemas por su origen animal y su vida media corta en sangre, un ineficiente reclutamiento de células efectoras, limitada penetración tumoral, reacciones inmunológicas frente a estos anticuerpos y pérdida de eficacia. Esto llevó a fabricar, mediante ingeniería genética anticuerpos quiméricos, humanizados y humanos. (4)

| TIPOS DE ANTICUERPOS MONOCLONALES | DESCRIPCIÓN |
|-----------------------------------|---|
| Murinos | El 100% del anticuerpo procede del ratón. Su aplicación terapéutica se ve limitada por la reacción inmunológica del ser humano al reconocerlos como extraños. |
| Quiméricos | Las regiones variables proceden del ratón y las constantes del humano construidos por técnicas de ingeniería genética. Con esto se consigue reducir la respuesta inmune pero no se eliminó. |
| Humanizados | Solamente las regiones CDR de las regiones variables de los anticuerpos proceden del ratón, siendo el resto de origen humano. 95% origen humano y 5% origen animal. Siguen apareciendo reacciones cruzadas o sensibilización del paciente en tratamientos con otros fármacos. |
| Humanos | Son en su totalidad de origen humano, reduciendo el riesgo de respuesta inmune. |

Tabla 1. Tipos de anticuerpos monoclonales según su origen. *Anticuerpos monoclonales terapéuticos: informe de vigilancia tecnológica (Genoma España/FUAM)*.

A su vez, podemos hacer otro tipo de clasificación en función de la unión de las inmunoglobulinas a otras sustancias:

| TIPOS DE ANTICUERPOS MONOCLONALES | ENLACE |
|-----------------------------------|--|
| Conjugados | Se unen a moléculas como fármacos, toxinas o sustancias radioactivas y liberan toxinas y otras sustancias citotóxicas en la proximidad de un tejido específico o célula diana. |
| No conjugados | No se unen a ninguna sustancia. Se unen a los antígenos específicos de las células diana y atraen células efectoras del sistema inmune. |

Tabla 2. Tipos de anticuerpos monoclonales según su unión a otras sustancias. *Anticuerpos monoclonales terapéuticos: informe de vigilancia tecnológica (Genoma España/FUAM)*.

La producción de anticuerpos monoclonales a través de hibridomas animales es relativamente sencilla. En cambio, la producción a través de hibridomas humanos es complicada, cara y tiene baja productividad.

3.2 OTRAS ESTRATEGIAS DE PRODUCCIÓN

Una alternativa a los problemas que surgen en el hibridoma son los anticuerpos monoclonales producidos en animales transgénicos portadores de Ig humanas, en plantas, en bacterias o en levaduras que presentan menor inmunogenicidad, menor coste, mayor tolerancia y mayor vida media en sangre. (4)

→ **Plantas transgénicas:** La utilización de plantas para producir anticuerpos monoclonales tanto en cultivo de células vegetales como en plantas ofrece ventajas como: el aumento de productividad y la reducción del coste. (4)

Existen varios tipos de anticuerpos y fragmentos recombinantes que han sido producidos a través de plantas. La mayoría se encuentra en fase de desarrollo y en ensayos clínicos. Algunas de las plantas utilizadas son:

- *Lemma minor*: ofrece un bajo coste en la producción de anticuerpos.
- *Arabidosis thaliana*: se han obtenido anticuerpos contra la hepatitis A.
- *Nicotiana tabacum*: se obtiene un anticuerpo quimérico de IgG / IgA contra un antígeno superficial de *Streptococcus mutans* (agente causal de la caries dental). Fue producido en tabaco y aplicado tópicamente en los dientes de varios voluntarios y se encontró que era tan eficaz como una IgG producida en hibridoma de ratón para prevenir la recolonización de las encías por *S. mutans*. (5)

3.2 TECNOLOGÍAS DEL ADN RECOMBINANTE

Estos métodos son realmente útiles en el rastreo de anticuerpos recombinantes que serán destinados al reconocimiento de una diana específica.

Presentación de anticuerpos en la superficie de fagos → `` Phage-display ``

Los bacteriófagos son virus que infectan a bacterias introduciendo su material genético en ellas y utilizando sus funciones vitales para su replicación. Uno de los fagos que se utiliza es el M13 que infecta a bacterias *E. coli* insertando en el genoma de la bacteria su ADN. (4)

Mediante técnicas de ingeniería genética se puede insertar una secuencia de ADN externa (ADN de una Ig específica) en el genoma del fago, expresando en su superficie la proteína codificada por el ADN insertado. La secuencia que se inserta en la superficie del fago se realiza en las proximidades del gen III del fago que codifica para la proteína pIII de su cubierta.

Este proceso permite la obtención de nuevos fagos que expresan en su superficie los anticuerpos de interés unidos a sus proteínas tipo III cuando un fago recombinante, con la secuencia de ADN codificante para un anticuerpo específico, infecta a una bacteria. Después se han de seleccionar los fagos que entran en contacto con el antígeno ya conocido que serán empleados nuevamente para infectar más bacterias con el fin de producir nuevos virus portadores de anticuerpos.

Con este método se pueden aislar fragmentos de anticuerpos (también anticuerpos enteros) que contengan los dominios variables del anticuerpo (parte específica que reconoce el antígeno). Así se mejora la avidéz y se facilita la unión a determinadas dianas.

Actualmente se utilizan **fagómidos** (vectores plasmídicos de pequeño tamaño y contruidos de forma artificial mediante ingeniería genética) que están diseñados con secuencias necesarias para la infección de *E. coli*, el gen III del fago M13 y un lugar específico para la inserción del ADN del anticuerpo de interés.

Esta tecnología permite crear lo que se denomina `` **bibliotecas de fragmentos de anticuerpos** `` o `` librerías de fagos `` que son colecciones de los fragmentos de anticuerpos específicos para distintos antígenos (tóxicos, células cancerígenas, enfermedades autoinmunes, ...) por la generación de múltiples fagos recombinantes (contienen gran diversidad de combinaciones genéticas de los diferentes genes de inmunoglobulinas humanas). Esto permite generar una gran cantidad de copias de anticuerpos humanos utilizando la técnica de

PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) con múltiples aplicaciones terapéuticas.

Las colecciones de anticuerpos cuando entran en contacto con un antígeno son capaces de identificar y aislar el anticuerpo específico contra el (mediante técnicas de ELISA, inmunofluorescencia, Western-Blot, y otras) y obtener grandes cantidades de anticuerpos monoclonales contra una diana en concreto.

| VENTAJAS | DESVENTAJAS |
|---|---|
| - Rapidez en la obtención de los anticuerpos monoclonales gracias a las bibliotecas de anticuerpos monoclonales. | - Los anticuerpos necesitan un proceso de maduración por técnicas moleculares para lograr una mayor afinidad. |
| - El antígeno y el anticuerpo no sufren alteraciones fisiológicas como las que se pueden producir en animales. - Se evita la manipulación de animales. - No hay inmunogenicidad por el uso de células animales. | - Los fagos pueden unirse a antígenos no específicos y generar anticuerpos monoclonales sin especificidad. |

Tabla 3. Ventajas y desventajas de la tecnología Phagge-Display

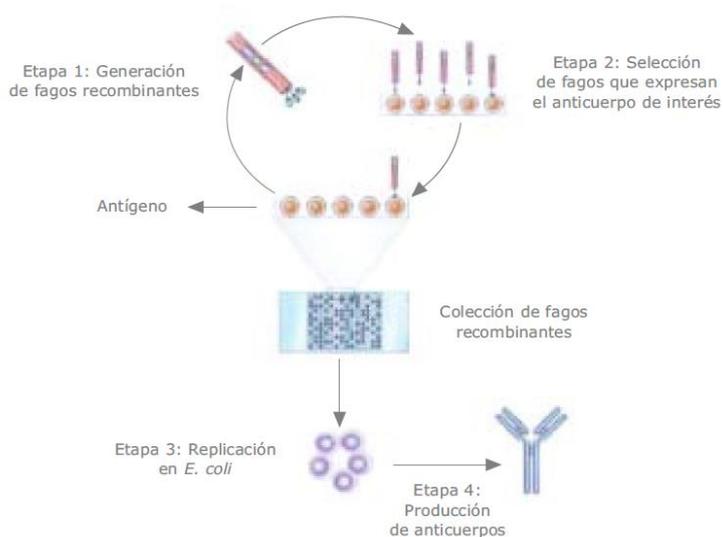


Figura 6. Producción de anticuerpos monoclonales mediante Phagge-Display. Adaptada de la original de *Anticuerpos monoclonales terapéuticos: informe de vigilancia tecnológica (Genoma España)*.

Tecnología de ``Ribosomal-Display``

Ribosomal Display es una tecnología basada en la síntesis de fragmentos de anticuerpos monoclonales *in vitro* a través de los ribosomas.

El primer paso es el aislamiento de los genes de los anticuerpos humanos utilizando la técnica de PCR. Los genes se copian a partir de este procedimiento y se obtienen numerosas copias de anticuerpos. (4)

Posteriormente se transcribe el ADN. El ARNm obtenido es incubado junto a ribosomas que lo leen y se sintetizan los anticuerpos formando un **complejo ribosoma-ARNm-anticuerpo**. (4)

Por último, se ponen en contacto el complejo y la diana específica seleccionándose y aislándose el anticuerpo específico contra el antígeno.

A partir de la técnica RT PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa Reversa: permite obtener millones de copias de un fragmento de ADN a partir del ARNm) es posible obtener la secuencia genética para posteriores clonajes. (4)

Este método permite la creación de ``colecciones de anticuerpos`` como en el caso anterior y, además, al no depender del uso de células o fagos, evita las limitaciones que surgen del empleo de seres vivos obteniéndose un potencial mayor en la producción de estas bibliotecas de anticuerpos. (4)

3.4 MEJORA DE LAS FUNCIONES EFECTORAS DE LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES

Muchos péptidos y proteínas utilizados en el tratamiento de distintas enfermedades pueden resultar tóxicos o degradarse rápidamente al entrar en contacto con el organismo sin realizar su efecto terapéutico.

Los anticuerpos monoclonales pueden resolver estos problemas uniéndose a las proteínas y aumentando su especificidad contra la célula diana mediante la formación de conjugados. Como, por ejemplo:

| CONJUGADOS DE ANTICUERPOS CON: | FUNCIÓN | APLICACIONES |
|--------------------------------|---|---|
| Toxinas (inmunotoxinas) | Reducen la toxicidad de las toxinas al dirigirse de forma específica a las células diana y liberar allí la toxina que se encarga de la destrucción celular. | -Su mayor aplicación en terapéutica es en los tumores hematológicos. -Toxina de <i>Ricinus communis</i> : interfiere en la síntesis de proteínas y provoca la muerte celular. - Toxina de <i>Corynebacterium diphtheriae</i> : interfiere en la síntesis proteica e induce la muerte celular. |
| Enzimas (ADEPT) | Se forman conjugados con enzimas activadoras de determinadas toxinas o fármacos. | -Se usa en el área de oncología. El conjugado enzima-Ac activa a fármacos inactivos o pre-toxinas. - Enzimas: Fosfatasa alcalina, beta-lactamasa. |
| Radioisótopos | El anticuerpo específico localiza la célula diana y emite la dosis de radiación de forma selectiva causando la muerte celular. | -Se emplea en la destrucción de células tumorales y evita que la molécula radioactiva permanezca mucho tiempo en sangre. - Itrio 90 - Yodo 131 ⁴⁵ |

| | | |
|-----------------------------------|--|--|
| Anticuerpos bioespecíficos | Son inmunoglobulinas construidas artificialmente en las que los dos sitios de unión al antígeno tienen especificidades diferentes. | -Dirigen toxinas, radionúclidos, enzimas, citoquinas y drogas citotóxicas hacia las células tumorales. -Se utiliza en combinación con radioisótopos en la que una parte de la Ig reconoce a las células tumorales, y la otra se une al radioisótopo. |
| Inmunocitoquinas | Las citoquinas se producen en la respuesta inmune. Recluta y activa a macrófagos y linfocitos ante células cancerosas. | -Interleucina 2 (IL-2) estimula la activación y reclutamiento de linfocitos T, células NK y macrófagos contra las células tumorales. -TNF-alfa también tiene propiedades antitumorales, pero no se puede administrar vía sistémica dada su toxicidad. |

Tabla 4. Conjugados de anticuerpos monoclonales con otras sustancias. *Anticuerpos monoclonales terapéuticos: informe de vigilancia tecnológica (Genoma España/FUAM).*

3.5 MEJORA DE LA EFICACIA DE LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES

La mejora de la eficacia de los anticuerpos monoclonales es un aspecto muy importante ya que implica una mejora de la función terapéutica de estos.

Las principales estrategias para la mejora de la eficacia de los anticuerpos son:

| ESTRATEGIA | MEJORA |
|--|---|
| Búsqueda de nuevas dianas terapéuticas | Los anticuerpos monoclonales ejercen su acción mediante el reconocimiento de dianas específicas. |
| Humanización de los anticuerpos | Las nuevas tecnologías y el avance en ingeniería genética y molecular han permitido producir anticuerpos monoclonales totalmente humanos para evitar la inmunogenicidad que provocan los anticuerpos murinos. |
| PEGilación de fragmentos de anticuerpos | -Los fragmentos de anticuerpos poseen mayor capacidad de penetración en los tejidos y tumores que los anticuerpos completos. Pero su eliminación de la circulación vía renal es mayor, es decir, poseen una vida media menor. -Para solventar este problema se ha desarrollado una nueva estrategia de PEGilación de fragmentos de anticuerpos que consiste en unir estos a una molécula de (Poli-Etilen-Glicol PEG) logrando aumentar su tamaño y por tanto su vida media en el organismo y potenciar su efectividad terapéutica. -Poseen mayor solubilidad y, por lo tanto, menor inmunogenicidad. |
| Nuevos conjugados | La formación de conjugados de anticuerpos monoclonales con toxinas, radioisótopos, enzimas, o fármacos como habíamos visto en el apartado anterior, mejora las funciones efectoras de los anticuerpos monoclonales y también su eficacia. |

| | |
|-------------------------|--|
| Nanoanticuerpos: | <ul style="list-style-type: none"> -Son proteínas de pequeño tamaño (110 aa apróx.) que están formados únicamente por la región de unión al antígeno de la cadena pesada (fragmento VH) de las inmunoglobulinas. -Se producen, principalmente tras la inmunización de animales camélidos (Ig G1 y Ig G3). (6) -Su pequeño tamaño les permite acceder a los lugares activos de las enzimas y las hendiduras de las membranas celulares al contrario que los anticuerpos monoclonales completos. -Son útiles en el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso porque atraviesan fácilmente la barrera hematoencefálica (↑ lipofilia) y permiten el tratamiento de grandes tumores. -Presentan un menor coste de producción, mayor estabilidad y menor inmunogenicidad. -En la actualidad se investiga su posibilidad terapéutica en la artritis reumatoide y otras enfermedades. |
|-------------------------|--|

Tabla 5. Estrategias para la mejora de eficacia de los anticuerpos monoclonales. *Anticuerpos monoclonales terapéuticos: informe de vigilancia tecnológica (Genoma España/FUAM).*

4. APLICACIONES TERAPÉUTICAS

Los anticuerpos monoclonales tienen un gran interés en la terapia de distintas enfermedades por su especificidad y su composición natural.

4.1 ENFERMEDADES AUTOINMUNES

Artritis reumatoide: Enfermedad autoinmune, crónica e inflamatoria, que afecta a huesos y articulaciones. Su tratamiento consiste en la administración de medicamentos antiinflamatorios, antirreumáticos, sesiones de fisioterapia y anticuerpos monoclonales.

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) es una citocina que se secreta en la respuesta inmune y es responsable de la inflamación de las articulaciones. Los anticuerpos monoclonales van dirigidos a inhibir este mediador.

Actualmente, existen varios anticuerpos comercializados para el tratamiento de la artritis reumatoide y para otras enfermedades autoinmunes como la enfermedad de Crohn, espondilitis anquilosante y la artritis psoriásica. Por ejemplo:

| Fármaco | Propiedades |
|---------------------------------------|---|
| <i>Humira</i> ® (<u>Adalimumab</u>) | <ul style="list-style-type: none"> -Anticuerpo monoclonal humanizado anti TNF-α producido en células de ovario de hámster chino. -Se administra vía subcutánea y la dosis depende de la patología. -Se puede combinar con metotrexato. |

| | |
|-------------------------------------|--|
| <p>Enbrel® (Etanercept)</p> | <p>-Proteína humana combinada con el receptor p75 del TNF-α y el fragmento Fc de la Ig G1 humana, obtenida por tecnología del ADN recombinante a partir de células de ovario de hámster chino. -Se administra vía subcutánea y la dosis depende de la patología. - Se puede combinar con metotrexato.</p> |
| <p>Mabthera® (Rituximab)</p> | <p>-Anticuerpo quimérico murino/humano compuesto por las regiones constantes de la Ig G1 humana y los fragmentos variables de células de ovario de hámster chino. -Reconoce el antígeno CD20 presente en los linfocitos B induciendo la muerte celular por apoptosis. -Utilizado, aparte de, en la artritis reumatoide, en linfoma no- Hodgkin y leucemia linfática crónica.</p> |

Tabla 6. Anticuerpos monoclonales comercializados para enfermedades autoinmunes. Agencia Española del Medicamento.

4.2 ASMA

Otra patología en la que son útiles los anticuerpos monoclonales es en el **asma**.

El asma es una enfermedad inflamatoria de las vías aéreas que produce sibilancias, dificultad para respirar, tos y opresión en el pecho.

Algunos de los anticuerpos monoclonales destinados al tratamiento del asma son:

| <p>Fármaco</p> | <p>Propiedades</p> |
|-------------------------------------|---|
| <p>Xolair® (Omalizumab)</p> | <p>-Anticuerpo anti-Ig E humanizado, obtenido por tecnología del ADN recombinante, que reduce las exacerbaciones y mejora la calidad de vida en el asma alérgica moderada-grave no controlada. -Se administra vía subcutáneas y la dosis óptima se fija en función de la concentración basal de Ig E medida antes del tratamiento y el peso corporal del paciente.</p> |
| <p>Nucala® (Mepolizumab)</p> | <p>-Anticuerpo Ig G1 humanizado que actúa como antagonista de la IL-5 (citoquina moduladora de eosinófilos), previniendo su unión a los receptores de eosinófilos e impidiendo su acción. -Tratamiento de mantenimiento del asma eosinofílica grave. -Se administra vía subcutánea en dosis recomendadas de 100 mg/4 semanas.</p> |

Tabla 7. Anticuerpos monoclonales comercializados para el asma. Agencia Española del Medicamento.

4.3 CÁNCER

Cuando hablamos de **cáncer** nos referimos a un término general. Se trata de células malignas que proliferan de forma anormal y descontrolada en forma de

tumores. Pueden desarrollarse en cualquier tejido del organismo dando lugar a distintos tipos de cáncer.

Debido a que este conjunto de enfermedades es una de las principales causas de mortalidad en el mundo se deben investigar nuevos tratamientos continuamente.

Los anticuerpos monoclonales son de utilidad al combinarse con la radioterapia y la quimioterapia aumentando su efecto y dirigiéndose a las células tumorales en concreto. Por ello, es para las patologías que más anticuerpos encontramos en el mercado.

| FÁRMACO | MECANISMO | PATOLOGÍA |
|---|--|--|
| <i>Avastin</i> ® (<u>Bevacizumab</u>) | -Anticuerpo monoclonal humanizado producido por la tecnología del ADN recombinante de células ováricas de hámster chino. -Se une al factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) inhibiendo la unión a sus receptores de las células endoteliales Y evitando el crecimiento del tumor. | -En monoterapia o en combinación con otros fármacos. -Cáncer de mama, de pulmón, de riñón, de ovario, de trompas de Falopio, colorrectal y carcinoma de cérvix. |
| <i>Erbix</i> ® (<u>Cetuximab</u>) | -Anticuerpo monoclonal Ig G1 quimérico. -Se une al receptor del factor de crecimiento epidérmico, inhibiendo la proliferación celular e induciendo la apoptosis de las células tumorales. Además, reduce la vascularización del tumor (su tamaño) y activa células citotóxicas. | Cáncer colorrectal y de células escamosas de cabeza y cuello en combinación con otros fármacos. |
| <i>Herceptin</i> ® (<u>Trastuzumab</u>) | -Anticuerpo monoclonal Ig G1 humanizado producido por células de ovario de hámster chino. -Se une a células cancerosas que presentan en su superficie la proteína HER2 frenando el crecimiento y desarrollo tumoral. | Cáncer de mama y cáncer gástrico. |
| <i>Tecentriq</i> ® (<u>Atezolizumab</u>) | -Anticuerpo monoclonal humanizado tipo Ig G1. -Se une a células tumorales que expresan la proteína PD-L1 impidiendo la inhibición de la respuesta inmune (activación de células T y citoquinas). | -En monoterapia o combinado con otros fármacos -Cáncer de pulmón y carcinoma urotelial |
| <i>Opdivo</i> ® (<u>Nivolumab</u>) | Anticuerpo monoclonal humano tipo Ig G4 que se une al receptor de la muerte programada PD 1 potenciando la respuesta de las células T citotóxicas. | Melanoma, cáncer de riñón, cáncer de pulmón no microcítico, linfoma de Hodgkin, cáncer de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma urotelial. |

| | | |
|---|--|---------------------------------|
| <p>Zevalin ® (<u>Ibritumomab</u> <u>Tiuxetan</u>)</p> | <p>Anticuerpo monoclonal que va dirigido al antígeno CD20 presentado por los linfocitos B y está unido a una sustancia radioactiva (itrio 90) lo que causa la muerte de la célula.</p> | <p>Linfoma no Hodgkin</p> |
| <p>Mylotarg ® (<u>Gentuzumab</u> ± <u>Ozogamizina</u>)</p> | <p>Anticuerpo monoclonal dirigido hacia el antígeno CD33 que se encuentra en las células leucémicas y células mieloides. -La ozogamizina se une al ADN celular provocando la muerte celular.</p> | <p>Leucemia mieloide aguda.</p> |

Anticuerpos monoclonales comercializados para el cáncer. *Anticuerpos monoclonales terapéuticos: informe de vigilancia tecnológica (Genoma España).*

5. MERCADO DE ANTICUERPOS MONOCLONALES

Desde la salida al mercado del primer anticuerpo monoclonal (Muromonab ®), que fue aprobado para la prevención del rechazo del trasplante de riñón en 1986, la industria farmacéutica ha visto una potente herramienta farmacológica en estos productos. (8)

Se calcula que cada año se lanzan aproximadamente 4 productos nuevos al mercado y que la producción cada vez es más potente. (8)

En 2020 existirán más de 70 productos derivados de anticuerpos monoclonales en el mercado y, se invertirán en ellos, una media de 125 billones de \$ (Alrededor de la mitad del capital invertido en productos biofarmacéuticos). (8)

6. CONCLUSIÓN

Para finalizar esta investigación y como conclusión, me gustaría destacar la importancia del uso de anticuerpos monoclonales terapéuticos en enfermedades graves como el cáncer, enfermedades autoinmunes, enfermedades del tracto respiratorio y otras muchas. Además de su posible asociación con otros fármacos que les permite llegar a una diana específica.

Aunque suponen un gran beneficio para el tratamiento de muchas enfermedades tienen sus propias limitaciones. Como pueden ser su elevado coste de producción o la falta de nuevas dianas terapéuticas a las que dirigirlos.

Estos inconvenientes se intentan superar con el desarrollo de otros sistemas de producción como el uso de plantas o fagos y el avance de la Biología Molecular que no cesa sus investigaciones destinadas a la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1). Charles AJ, Travers P, Walport M. Elementos del sistema inmunitario y su papel en la defensa. En: Parham, P. Inmunología. 2ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006. p. 1-36.
- (2) Charles AJ, Travers P, Walport M. Estructura de los anticuerpos y generación de la diversidad de los linfocitos B. En: Parham, P. Inmunología. 2ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006. p. 39-50.
- (3). Charles AJ, Travers P, Walport M. Inmunidad mediada por células B y anticuerpos. En: Parham, P. Inmunología. 2ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006. p. 211-212.
- (4). Ruiz G, Moreno M, López M, Vega M. Anticuerpos monoclonales terapéuticos: Informe de vigilancia tecnológica. Madrid: Fundación Española para el Desarrollo de la Investigación en Genómica; 2008.
- (5). Gómez Lim MA, et al. La producción de vacunas y otros compuestos farmacéuticos en plantas transgénicas. Rev. Soc. Quím. Méx. 2002; 46(3): 264-270.
- (6). Notiwiener.net: Nanoanticuerpos, el futuro en la utilización de anticuerpos [Internet]. Argentina: Wiener laboratorios SAIC; 2015 [Actualizado 31 de octubre de 2017; citado 13 de junio de 2018]. Disponible en: <https://notiwiener.net/2015/12/nanoanticuerpos-el-futuro-en-la-utilizacion-de-anticuerpos/>
- (7). Agencia Española del Medicamento, [Internet], [Consultado 11 de junio de 2018]. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/home.htm>
- (8). Dawn Ecker M, Dana Jones S, Howard Levine L, et all. The therapeutic monoclonal antibody market, mAbs. T&F Online [Internet]. 2015 [16 de junio de 2018]; 7(1): 9-14. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.4161/19420862.2015.989042>