

Los Anticuerpos Monoclonales y Su Aplicabilidad Clínica

Shirley Delair, María Angélica Mendoza

(II Semestre de Medicina)

Los procesos de la evolución llegaron a una brillante solución. crearon una molécula adaptable que de por sí era capaz no sólo de activar el sistema de complemento y de estimular las células fagocíticas, sino además de adherirse al microorganismo invasor. Esta molécula adaptable presentaba tres regiones principales, dos afectadas con la comunicación con el complemento y los fagocitos (funciones biológicas), y uno relacionado con la unión al microorganismo como individuo (la función de reconocimiento externo). El organismo debe producir cientos de miles, o aun millones de moléculas adaptables con sitios de reconocimiento diferentes. Esta molécula adaptadora se conoce como anticuerpo.

En un principio se creía que los anticuerpos derivaban de una molécula plástica maestra que podía moldearse hasta adquirir la forma adecuada, con el antígeno como patrón, en la actualidad se sabe que los anticuerpos son formados antes de siquiera ver al antígeno, y que son seleccionados por él. El sistema funciona de la siguiente manera: cada linfocito de un subtipo denominado linfocitos B, es programado para formar uno y sólo un anticuerpo, y coloca ese anticuerpo sobre su superficie externa para actuar como receptor. Cuando un antígeno penetra en el organismo, es confrontado con un número deslumbrante de linfocitos, cada uno con un anticuerpo diferente, con un sitio individual de reconocimiento. El antígeno sólo se une a los receptores con los que se acopla en forma adecuada. Los linfocitos cuyos receptores están ligados a antígeno reciben una señal desencadenante y se desarrollan a células plasmáticas formadoras de anticuerpos, y dado que los linfocitos están programados para formar un único anticuerpo, el secretado por las células plasmáticas será idéntico al que actuó originalmente como receptor del linfocitos, es decir, se unirá bien al antígeno. De esta manera, el antígeno selecciona los anticuerpos que lo reconocen en forma eficaz.

No es posible tener muchos linfocitos productores de cada tipo de anticuerpo; no existe espacio suficiente para acomodarlos en el organismo. Para compensar esto los que linfocitos han sido estimulados por el contacto con el antígeno sufren ondas sucesivas de proliferación para un gran clon de células plasmáticas capaces de producir anticuerpos del tipo para el que fue programado el linfocito original: sistema de selección clonal, el cual es importante en el desarrollo de una respuesta de anticuerpos significativa.

OBJETIVO

En esta monografía presentaremos de los anticuerpos monoclonales lo siguiente:

1. Definición de Anticuerpos Monoclonales

2. Preparación de Anticuerpos Monoclonales

3. Producción de Anticuerpos Monoclonales Humanos

4. Aplicabilidad Clínica

b) En trasplantes, regeneración de tejidos y enfermedades autoinmunes

c) En el SIDA

d) En el Cáncer

1. Definición (1)

Una técnica que ha revolucionado la inmunología es la que permite producir una cantidad sin límite de anticuerpos específicos por un antígeno determinado, estos son los anticuerpos monoclonales. Estos han surgido de la necesidad que tenían los investigadores de estudiar la estructura de los anticuerpos. En un comienzo utilizaban anticuerpos presentes en la sangre de individuos inmunizados porque la sangre tiene diferentes anticuerpos cada uno derivado de una copia de células B y cada uno con una estructura y una especificidad para un antígeno. Sin embargo los anticuerpos son tan similares que Michael Heidelberg y colegas han podido purificar las muestras sanguíneas para empezar las investigaciones. Los inmunólogos han podido desde entonces estudiar los rasgos estructurales de las moléculas de los anticuerpos. Sin embargo no pudieron analizar en detalle los anticuerpos (p. ej. conocer las secuencias de aminoácidos) la producción en masa de los anticuerpos monoclonales. Georges Kohler y Cesar Milstein, en 1975, elaboraron las técnicas para la producción de estos anticuerpos. El paso clave sucedió cuando las investigaciones mostraron que pacientes o animales con mieloma múltiple, un tumor monoclonal de células plasmáticas secretoras de anticuerpos, tenían altas concentraciones de anticuerpos bioquímicamente idénticos o porciones de estos anticuerpos en su orina o sangre. Era entonces una fuente de anticuerpos de una especificidad.

2. Preparación de Anticuerpos Monoclonales (2)

La técnica de producción de anticuerpos monoclonales está basada en el hecho que cada linfocito B produce anticuerpos de una especificidad. Entonces, cada tumor monoclonal derivado de un linfocito B, llamado un mieloma produce un solo anticuerpo. Estos tumores ocurren espontáneamente en hombres y mujeres pero también puede ser inducido experimentalmente. Ratones inmunizados con un antígeno portador de por lo ejemplo dos epitopes, a y b, desarrollan células esplénicas productoras de anti-a y anti-b que aparecen como anticuerpos en el suero. Se realiza una esplenectomía y las células individuales se fusionan en polietilenglicol con linfocitos B tumorales en división constante seleccionados por presentar una deficiencia de enzimas de purina y a menudo por su incapacidad para secretar Ig. Las células resultante se distribuyen en placas con microcubetas con medio HAT (hipoxantina, aminopterina, timidina) que elimina los acompañantes de perfusión, a una

concentración celular tan elevada que en promedio cada cubeta contiene menos de una célula de hibridoma. Dado que cada hibridoma es el producto de una única célula formadora de anticuerpo y una célula tumoral, tendrá la capacidad de la primera para secretar una única especie de anticuerpo y la inmortalidad de la segunda que le permitirá proliferar en forma continua, con una progenie proveedora de un suministro sin fin de anticuerpo con una única especificidad, el anticuerpo monoclonal. Esta técnica permite también la formación de anticuerpos monoclonales contra mezclas complejas de antígenos multiópticos.

Para ser utilizados en seres humanos la solución ideal es la producción de monoclonales totalmente humanos. Los acompañantes de fusión del mieloma humano no han encontrado aceptación dado que tienden a presentar bajas eficiencias de fusión, crecimiento escaso, y secreción de Ig que diluye el monoclonal deseado. Puede emplearse un heterohibridoma no secretante obtenido por fusión de mieloma de ratón con linfocitos B humanos como acompañante de fusión productivo para linfocitos T humanos productores de anticuerpos. Otros investigadores han utilizado los acompañantes murinos y los heterohibridomas, los cuales forman clones con facilidad y son muy productivos. Existe cierta inestabilidad por pérdida de cromosomas y en apariencia se mantiene la producción de anticuerpo por translocación de los genes humanos a los cromosomas murinos. La frecuencia de fusión es aún mayor si se emplean líneas EBV transformadas en lugar de linfocitos B.

3. Producción de Anticuerpos Monoclonales Humanos (2)

Los monoclonales de ratón inyectados en sujetos humanos con fines terapéuticos resultan muy inmunogénicos y los anticuerpos anti-ratón humanos así formados representan un problema que acelera la depuración del monoclonal de la sangre. En determinadas circunstancias se supone que un monoclonal de ratón captado por una célula tumoral podría ser procesado y transformarse en el blanco ligado al CMH de linfocitos T citotóxicos o favorecer la respuesta contra un antígeno débilmente inmunogénico. Sin embargo, se tiende a eliminar las porciones extrañas del anticuerpo monoclonal y reemplazarlos por Ig humanas por DNA recombinante. Las construcciones quiméricas, en las que los dominios murinos Vh y Vl son acoplados a genes humanos Ch y Cl son mucho menos inmunogénicos en humanos aunque presenten cierta tendencia a provocar respuestas anti-idiotipo; esto puede ser evitado por medio de anticuerpos quiméricos que cargan diferentes idiotipos en inyecciones subsecuentes. Esto no representa un ejercicio trivial, y aún atrae el objetivo de fusionar linfocitos B humanos para crear hibridomas, teniendo en cuenta no sólo la importante reducción de la inmunogenicidad, sino además el hecho de que en una misma especie pueden formarse anticuerpos contra sutiles diferencias. A pesar de las dificultades que existen para encontrar componentes adecuados para la fusión, se han establecido numerosos monoclonales humanos. Los linfocitos B de la sangre periférica, por lo general no se consideran una buena fuente de células formadoras de anticuerpo lo cual representa una restricción adicional.

Muchos monoclonales humanos están listos para ser utilizados en clínica, pueden citarse el IgG anti-RhD para la prevención de la enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad Rh, y monoclonales muy poderosos para la protección contra varicela zoster, citomegalovirus, estreptococos grupo B y endotoxinas lipopolisacáridas de bacterias gramnegativas.

4. Aplicabilidad Clínica:

a) En trasplantes, regeneración de tejidos y enfermedades autoinmunes

En el tratamiento de la glomerulonefritis, investigadores del laboratorio farmacéutico Alexion y de la Universidad de Yale, han utilizado la inhibición de la unión del componente C5 del complemento por anticuerpos monoclonales.(3) Ellos trataron una rata con un anticuerpo monoclonal específico para el componente C5 del complemento, inhibiendo así su unión y su futura activación a C5a y C5b-9, ambos potentes activadores proinflamatorios. El Dr. Yi Wang principal autor del artículo, añade que una terapia continua durante 6 meses con estos anticuerpos anti-C5 permitió mejorar la glomerulonefritis y aumentar así la supervivencia. Estos resultados también se pueden aplicar a enfermedades como el lupus eritematoso sistémico pero en este caso generando anticuerpos monoclonales humanos para poder ensayar esta técnica sobre los pacientes humanos.

Los anticuerpos monoclonales pueden estimular la regeneración de neuronas en animales. El Dr. Barbara S. Bregman de la Universidad de Georgetown y sus colegas del Instituto de Investigación del Cerebro en Zurich, han mostrado que un anticuerpo monoclonal, IN-1, neutraliza la proteína inhibidora del crecimiento neuronal de células con mielina de ratones con lesiones a nivel de la médula espinal.(4) Esta neutralización llevó a una regeneración de las neuronas y una recuperación parcial de las funciones límbicas. La ventaja de las aplicaciones de los anticuerpos monoclonales en la regeneración del sistema nervioso central es que permite llegar a unos beneficios clínicos en vez de solo reducir los daños causados por lesiones.

La globulina antilinfocito, que contiene anticuerpos que reaccionan con los antígenos leucocitarios CD45, es un agente efectivo en la prevención de rechazo después de un trasplante de órgano.(5) El Dr. Andrew Y. Lazarovitsy y colegas, reportaron que ratones sometidos a un trasplante de riñón y tratados después con dos inyecciones de la proteína CD45RB, sobrevivieron y mantuvieron un funcionamiento normal de sus riñones.(7) Otro grupo de ratones en el cual el tratamiento había sido retardado a 4 días, las inyecciones de CD45RB permitieron prevenir el rechazo agudo del órgano implantado.. El Dr. Lazarovitsy añadió que los anticuerpos monoclonales bajo investigación tienen la ventaja de atacar solo las células inmunes encargadas del rechazo de órganos.

b) En el SIDA

En enfermedades como el SIDA se está explotando la viabilidad de los anticuerpos monoclonales. Un estudio por ejemplo, reveló que los anticuerpos

monoclonales recombinantes pueden ofrecer alguna protección contra el HIV.(6) Se trata de que un solo anticuerpo monoclonal humano recombinado (mAb) que procura protección completa contra el HIV en un modelo animal. El IgG1 b12, el cual confiere inmunidad pasiva está siendo desarrollado por los investigadores de la Script Research Institute en La Jolla, California, para la inmunofilaxia y inmunoterapia de infección de HIV-1 en los humanos. El mAb IgG1 b12, que fue presentado por el Dr. Paul W. H. I. Parren en la XI Conferencia Internacional sobre el SIDA, a mayor concentración procura mayor protección y completa protección fue otorgada cuando la dosis de este anticuerpo subía a 100 microgramos por ratón inyectado. Y otra conclusión era que el anticuerpo podría ser administrado hasta 8 horas después de la infección y todavía dar completa protección cuando era administrado a dosis adecuadas. El Dr. Warren cree que la habilidad del IgG1 b12 de neutralizar varios especímenes del HIV-1 tiene implicaciones importantes en la elaboración de una vacuna contra el SIDA.

Un equipo de investigadores de Italia y Alemania han identificado un nuevo marcador que puede independientemente predecir el riesgo de progresión al SIDA de ciertos individuos infectado por el HIV.(7) El Doctor Lacobelli denomina el marcador 90K porque es un anticuerpo monoclonal asociado a un tumor de antígeno que pesa 90 Kilodaltons. El Dr. y su equipo de investigadores estudiaron durante 32.5 meses 488 pacientes que se inyectaban drogas por vía endovenosas y que eran HIV-seropositivos. Los resultados mostraron que los pacientes con una alta concentración 90K en el suero desarrollaban el SIDA más rápidamente independientemente de sus recuentos de CD4. Pero los pacientes con altos recuentos de CD4 (más de 500) y el 90K alto (30 U/ml) doblaban sus posibilidades de desarrollar el SIDA si se comparaban a pacientes con 90K más bajos.

d) En el Cáncer

Los anticuerpos monoclonales hacen parte integrante de las investigaciones oncológicas. En el tratamiento del cáncer de las mamas, un nuevo examen usa los anticuerpos monoclonales marcados radioactivamente para identificar los tumores. Eso puede llevar a mejorar el diagnóstico y el tratamiento. (8) El equipo de investigadores ha mejorado una técnica vieja que usaba un anticuerpo monoclonal llamado alpha-M2. Al marcar radioactivamente una porción de la cadena peptídica del anticuerpo alpha-M2, los investigadores inyectaron la preparación a 26 pacientes diagnosticadas con cáncer de la mama. Ellos lograron así calcar lesiones malignas de mama. El anticuerpo alpha-M2 permitió identificar 14 de los 15 tumores primarios, todas las 8 recurrencias locales y todos los 6 nódulos linfáticos metastáticos supraclaviculares de los pacientes. Estos anticuerpos radioactivos aún que se excreten rápido, llegan a localizar los tumores por lo menos 30 minutos después de inyectar a los pacientes.

En otro estudio, los investigadores usan los factores de crecimiento tumorales como terapia contra el cáncer de mama.(9) En la fase II de un estudio del Dr. José Baselga en el Memorial Sloane Kettering Cáncer Center, los resultados mostraron que al atacar un receptor específico de un factor de crecimiento

tumoral de mujeres con cáncer de mama metastático, puede conllevar a la regresión del tumor. En estas investigaciones se usó anticuerpos monoclonales humanos recombinados (HER2), que tienen una alta afinidad para un receptor glicoproteico transmembranal llamado p185HER. Las 43 mujeres en el estudio tenían cáncer de mama metastático con un HER2 sobreexpresado. Después de 10 semanas de terapia con los anticuerpos monoclonales específicos para HER2, se logró la curación completa de una paciente, y la parcial de 4 más. La respuesta general al tratamiento era de 11.6%. Según el Dr. Baselga la terapia fue bien tolerada por los pacientes, y es un tratamiento viable porque contrario a la mayoría de los tratamientos contra el cáncer, la terapia con anticuerpos monoclonales no es tóxica.

CONCLUSIÓN

La tecnología de los anticuerpos monoclonales puede ayudar a desarrollar varios campos de la medicina. La posibilidad de generar anticuerpos específicos para una gran variedad de enfermedades es de suma importancia. La especificidad de los anticuerpos monoclonales puede parecer como una característica limitante de su aplicabilidad clínica en los casos de mutaciones de bacterias que de esta manera se protegen del ataque de los anticuerpos. Sin embargo, en el futuro se podrá al saber la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo en las regiones que se unen al antígeno generar un mecanismo que permite que sea presente varias mutaciones que podrían contrarrestar las mutaciones de los agentes nocivos. Claro que para poder desarrollar tales técnicas habrá que conocer más los mecanismos de mutaciones de estos mismos agentes nocivos.