

REVISIÓN

Anticuerpos monoclonales empleados como agentes terapéuticos en enfermedades inflamatorias

Sánchez, M. L.

Laboratorio de Inmunomoduladores. Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, CONICET, Cátedra de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina-UBA. CABA, Argentina.

Correspondencia: Mercedes Leonor Sánchez, Laboratorio de Inmunomoduladores. Paraguay 2155, Piso 17, CP 1121. CABA, Argentina. e-mail: mercedessanchez57@yahoo.com.ar

RESUMEN

Introducción: los anticuerpos monoclonales empleados en la clínica para el tratamiento de enfermedades inflamatorias abarcan un amplio campo de trabajo cuyo entendimiento se inicia con una breve descripción de la obtención de los distintos tipos que se encuentran disponibles en la práctica médica. **Objetivo.** Detallar de manera explícita los métodos de obtención, la nomenclatura y los mecanismos de acción de cada fármaco. **Materiales y métodos.** Se describen los métodos de obtención y se explica la aplicación clínica de numerosos anticuerpos en distintas patologías. El trabajo se divide en las siguientes secciones: Anticuerpos monoclonales, Anticuerpos monoclonales completamente murinos, Anticuerpos monoclonales quiméricos, Anticuerpos monoclonales humanizados, Anticuerpos monoclonales humanos, Reacciones adversas de los anticuerpos monoclonales, Mecanismo de acción de los anticuerpos monoclonales, Efectos adversos, Patología inflamatorias, Anticuerpos monoclonales empleados para el tratamiento de la inflamación.

Palabras clave: anticuerpos monoclonales, enfermedades inflamatorias, efectos adversos, mecanismos de acción, efecto terapéutico.

SUMMARY

Introduction. Monoclonal antibodies used in medical practice constitute a wide working area and its understanding begins with a short description of the procedures that are commonly applied to obtain different classes of molecules. **Aim.** Explain different subjects as methodology, nomenclature, adverse effects and mechanisms of action of each antibody. **Materials and methods.** Description of obtaining methodologies and medical practice in inflammatory diseases. This revision is presented in different sections such as monoclonal antibodies, monoclonal antibodies completely murine, quimeric monoclonal antibodies, humanized monoclonal antibodies, human monoclonal antibodies, mechanism of action, inflammatory diseases, adverse effects and monoclonal antibodies used in inflammation treatments.

Key words: monoclonal antibodies, inflammatory diseases, adverse effects, mechanisms of action, therapeutic effect.

Introducción

los anticuerpos son moléculas producidas por el organismo a lo largo de la vida del individuo. Existen 5 clases diferentes y varios subtipos: IgM, IgD, IgE, IgA1, IgA2, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgG4. Están compuestos por un dímero de cadenas pesadas y dos cadenas livianas. Presentan una región variable compuesta por los extremos amino terminales de ambas; estas cadenas se encuentran unidas entre sí por puentes disulfuro. Es posible realizar una degradación enzimática de los anticuerpos con papaína o pepsina, obteniéndose los fragmentos Fab que llevan el sitio de reconocimiento del antígeno, la región Fc que está caracterizada por conferirle a la molécula un determinado isotipo o clase y donde residen las funciones efectoras de los distintos anticuerpos y un fragmento F(ab)₂ que lleva dos sitios de reconocimiento para el antígeno y no posee la región efectora. Se detallan a continuación algunos métodos de obtención de los anticuerpos monoclonales, su nomenclatura, efectos adversos y mecanismos de acción en patologías inflamatorias.

Obtención de anticuerpos monoclonales

En 1975 se generaron en el laboratorio los primeros anticuerpos monoclonales por la técnica de obtención de hibridomas¹. Estos anticuerpos eran producidos por el ratón y tenían limitaciones como agentes terapéuticos como la inmunogenicidad que presentaban, ya que la molécula de ratón es reconocida como extraña en el hombre, su falta de funciones efectoras y su corta vida media.

Los anticuerpos monoclonales altamente específicos pueden ser obtenidos fusionando células B inmunes obtenidas a partir de bazo de un animal inmunizado con el antígeno y células tumorales de mieloma no secretante de inmunoglobulinas, que confieren la capacidad de reproducirse y que son deficientes en la enzima hipoxantina guanina fosforibosil transferasa que participa en una de las vías de síntesis de ADN para producir hibridomas, cada uno de los cuales producirá un anticuerpo único. La mezcla celular resultante es cultivada en un medio que contiene hipoxantina-aminopterina-timina (HAT) donde las células de mieloma morirán, así como los linfocitos B que no hayan sido fusionados, ya que estos no tienen la capacidad de reproducirse indefinidamente *in vitro*. Los hibridomas resultantes podrán crecer por presentar la enzima aportada por los linfocitos y la capacidad de reproducirse aportada por las células de mieloma. La población de hibridomas secretará al medio de cultivo anticuerpos con distinta especificidad y distinta afinidad, ya que cada uno de ellos proviene de un linfocito B del animal inmunizado con un antígeno multivalente con numerosos epitopes.

Luego los hibridomas son clonados en pocillos de placas de cultivo, obteniendo una célula por pocillo. Estos crecerán individualmente y proliferarán hasta formar un clon que consiste en la progenie idéntica a la célula que le dio origen. Cada uno de los hibridomas productores de anticuerpos

puede ser identificado por un método de testeo de la presencia de anticuerpo en el sobrenadante de cultivo con, por ejemplo, un ensayo de inmunoadsorción en placa (ELISA)¹.

Otro método de obtención de anticuerpos monoclonales es por la inmortalización de líneas linfoblastoides a partir de tejido humano adulto y fetal con el virus de Epstein-Barr (EBV)².

También se pueden obtener fragmentos de anticuerpos usando bibliotecas de *phage display*. Un fago o bacteriófago es un virus que infecta bacterias. El fago más comúnmente utilizado en *phage display* es el fago filamentosos como el Fd o M13. La familia de los fagos filamentosos pertenece al género de los Inovirus, que comprende una serie de bacteriófagos acoplados con el ADN en forma de simple cadena. Los fagos filamentosos infectan las cepas de *E.coli* que contengan el plásmido conjugativo F, a través de su unión al extremo del pilus y su translocación al citoplasma de la célula. El ensamblaje en la membrana de la célula de *E.coli* y la salida de las partículas virales no causan la lisis celular o muerte de la bacteria. Las bacterias infectadas continúan vivas; aunque su velocidad de crecimiento decrece. Smith demostró en 1985 que manipulando el genoma de los fagos se podía obtener partículas con péptidos fusionados a proteínas de su cápsida o superficie³. *Phage display* es una técnica que se utiliza para seleccionar anticuerpos de una gran colección de fagos que exponen en sus superficies distintos anticuerpos. Esta colección de fagos se llama biblioteca de anticuerpos. Los anticuerpos no son expresados en el fago en forma de una inmunoglobulina entera sino en forma de fragmentos Fab o scFv. Por ejemplo, las librerías de anticuerpos de Morphosys AG (<http://www.morphosys.com>) y Dyax Corp (<http://www.dyax.com>) son una de las librerías de anticuerpos que se están utilizando para este propósito. Una genoteca de anticuerpos se construye al clonar los fragmentos de ADN que codifican las regiones variables de la cadena pesada (VH) y la cadena ligera (VL) en un vector de *phage display* en fusión con la proteína pIII del fago. Los anticuerpos son fusionados a la pIII ya que los anticuerpos son expuestos de forma monovalente, es decir una copia de anticuerpo por fago. Los anticuerpos son presentados en forma de fragmentos ya que un anticuerpo completo causarían problemas de empaquetamiento del fago y problemas de expresión. Se han presentado fragmentos de anticuerpos en la superficie de fagos en formatos diferentes. Los formatos más utilizados son scFv⁴ y Fab⁵, aunque se han empleado otras variantes incluida dsFv fusionados a la proteína pIII son empaquetados en la cápsida del fago, pero a través de reclonajes también pueden ser expresados en forma soluble (soluble Fab o sFab y soluble scFv), es decir, no fusionados a la proteína pIII.

Las partículas de fagos que presentan anticuerpos en sus superficies pueden ser seleccionadas con una diana de interés inmovilizada en la superficie de un inmunotubo o acoplada a partículas magnéticas. La diana tiene que tener cierta afinidad a la proteína expuesta en la superficie

del fago para capturar aquellos fagos que tengan la proteína en su superficie. La selección se hace a través de varios pasos de selección llamados *panning* o *biopanning*. Todas las partículas de fagos que no se unan a la diana de interés son eliminadas mediante sucesivos lavados. Las partículas de fagos capturados son eluidas primeramente y después utilizadas para infectar *E. coli* y permitir la amplificación de estos fagos para su uso en un nuevo ciclo de selección. De esta forma, se puede seleccionar de una gran población de fagos que expresen anticuerpos monoclonales en su superficie uno o varios clones que se unan de forma específica a una diana de interés.

Phage display es un sistema alternativo al sistema clásico de obtención de anticuerpos monoclonales llamado técnica de hibridomas. La diferencia entre los dos sistemas es que con *phage display* no es necesario inmunizar ratones si se utiliza una librería "naïve" de anticuerpos". Una población de fagos que exponen distintos anticuerpos en sus superficies y que reconocen diferentes epítopes de un mismo antígeno equivale a anticuerpos policlonales. Un clon de fago que expone solamente un anticuerpo en su superficie equivale a un anticuerpo monoclonal.

Existen otros métodos para la generación de anticuerpos monoclonales que no describiremos aquí.

Los anticuerpos monoclonales pueden ser clasificados en las siguientes categorías de acuerdo con la especie que produce los fragmentos de las cadenas pesadas y livianas.

- Anticuerpos monoclonales completamente murinos: como lo fueron los primeros anticuerpos monoclonales obtenidos en el laboratorio, ya descriptos.
- Anticuerpos monoclonales quiméricos: es decir, un fragmento contiene la secuencia aminoacídica correspondiente a la región variable de reconocimiento antigénico de ratón y otro fragmento contiene la secuencia correspondiente a la secuencia aminoacídica de la región constante humana. También se pueden formar quimeras donde la secuencia variable corresponda a un anticuerpo y la región Fc efectora sea reemplazada por una secuencia de otra molécula como el CTLA-4. Otro tipo de quimeras son aquellas en que a la molécula de anticuerpos, una vez sintetizada, se le acoplan toxinas como la ricina o la abrina de origen vegetal o toxinas bacterianas como la toxina diftérica o la exotoxina de *Pseudomonas*.
- Anticuerpos monoclonales humanizados: estos anticuerpos conservan las secuencias correspondientes a las regiones determinantes de complementariedad (CDRs) de ratón que son las que reconocen al antígeno, y el resto de la molécula está constituida por secuencias aminoacídicas humanas.
- Anticuerpos monoclonales humanos: presentan secuencias aminoacídicas completamente humanas. Se consiguen inmunizando ratones a los que se les reemplazó gran parte del locus que codifica para las inmunoglobulinas de ratón por secuencias humanas capaces de sufrir

recombinación somática. De esa forma, estos ratones son capaces de producir anticuerpos humanos.

Reacciones adversas de los anticuerpos monoclonales

Los anticuerpos monoclonales que se emplean en la clínica han sido murinos, quiméricos humano-ratón, humanizados o humanos. Cuando al ser humano se le suministran anticuerpos que presentan regiones murinas, estas desencadenan la formación de anticuerpos anti-ratón humanos (HAMA). La humanización de los anticuerpos ha disminuido notablemente su inmunogenicidad. En muchos casos, algunos de los pacientes tratados con los anticuerpos quiméricos desarrollaron anticuerpos anti-quiméricos humanos (HACA). Estos anticuerpos disminuyen la vida media y la efectividad de los anticuerpos terapéuticos, causando anafilaxia relacionada con la infusión, en algunos pacientes. Se suelen coadministrar agentes antisupresivos; sin embargo, los pacientes tratados con anticuerpos humanizados o humanos han desarrollado anticuerpos antihumano (HAHA).

La nomenclatura genérica de anticuerpos monoclonales está indicada por el sufijo mab precedido por el origen animal de la secuencia aminoacídica de la molécula, "mo" mouse, "xi" quimera ratón/humano, "axo" quimera ratón/rata, "zu" humanizado, "mu" humano, precedido por la enfermedad o la clase de tejido blanco: "tu" o "tum" tumor, "li" o "lim" sistema inmune, linfocitos, inmunomoduladores o inmunosupresores, "ci" o "cir" cardiovascular, "os" hueso, precedido por un prefijo único; por ejemplo: bevacizumab es un anticuerpo humanizado que está dirigido contra el antígeno cardiovascular mientras que el panitumumab es un anticuerpo monoclonal humano que está dirigido contra el antígeno tumoral.

Un grupo de anticuerpos antiinflamatorios lo constituyen los anticuerpos bloqueantes, los cuales no sólo inhiben la unión del ligando a su receptor sino que también regulan negativamente la expresión en la superficie celular de los receptores blanco.

Mecanismo de acción de los anticuerpos monoclonales

El empleo de muchos anticuerpos monoclonales en terapia se basa en su capacidad neutralizante cuando están dirigidos contra moléculas solubles, lo que permite disminuir su concentración efectiva, por formación y depuración de los complejos inmunes formados circulantes. En muchos casos el mecanismo que se pone en juego es la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA) donde las células responsables del efecto son aquellas que presentan un receptor para la región Fc del anticuerpo, como las células NK, los monocitos, los macrófagos y los leucocitos polimorfonucleares. Otros mecanismos por el que actúan los anticuerpos monoclonales son por la activación de la vía clásica del sistema complemento y por la inducción de la apoptosis. Por último, los anticuerpos monoclonales pueden ejercer su acción bloqueando la activación de los receptores de membrana. Además de las interacciones de bloqueo receptor/ligando, el entrecruzamiento de los receptores es otro meca-

nismo de acción que es mediado por la región Fab bivalente de la molécula de anticuerpo.

Patologías inflamatorias

La artritis reumatoidea es una enfermedad autoinmune con una prevalencia de 1% en la población. Se caracteriza por la inflamación de las articulaciones sinoviales que puede progresar a un daño y eventual destrucción de estas. Las articulaciones pueden ser infiltradas con células, especialmente linfocitos T y macrófagos, y elevados niveles de factor de necrosis tumoral (TNF α) han sido encontrados en el líquido sinovial en más del 50% de los pacientes. El TNF α tiene muchos efectos biológicos, incluyendo no sólo la activación endotelial y la expresión de moléculas de adhesión, sino también la activación de granulocitos que resultan en una fagocitosis incrementada, degranulación y generación de radicales oxígeno y prostaglandina E2, estimulación del crecimiento de fibroblastos, estimulación de la producción de citoquinas, y coestimulación junto con IL-2 de la proliferación de células T.

El TNF α es una citoquina natural que interviene en la respuesta inmunitaria e inflamatoria normal. Desempeña un importante papel en el proceso inflamatorio de la artritis reumatoidea (AR), artritis reumatoidea juvenil (ARJ) poliarticular, espondilitis anquilosante y en la patología articular resultante. Se hallan elevados niveles de TNF α en los líquidos y tejidos comprometidos de estos pacientes. En psoriasis de placa, la infiltración por células inflamatorias, tales como las células T, deriva en una elevación de los niveles de TNF α en las lesiones psoriáticas en comparación con los niveles de TNF α en piel no afectada. Los dos diferentes receptores del TNF α (TNFR), la proteína de 55 KDa (p55) y la proteína de 75 KDa (p75) se encuentran en forma natural como moléculas monoméricas solubles en la superficie celular.

La sobreexpresión de TNF- α desempeña un papel fundamental en el desarrollo de la psoriasis y la artritis, ya que induce la producción de otras citoquinas proinflamatorias tales como la IL-1, IL-6, IL-8 y enzimas degradativas incluyendo varias metaloproteinasas de matriz⁶⁻⁷, por lo tanto, media procesos biológicos que resultan en el daño de las articulaciones caracterizados por la estimulación de la resorción ósea y la inhibición de la formación del hueso y la síntesis de proteoglicanos.

Anticuerpos monoclonales empleados para el tratamiento de la inflamación

En el presente trabajo de revisión se consultó el vademécum farmacológico de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) dependiente del Ministerio de Salud de la Presidencia de la Nación, así como las publicaciones científicas que aparecen indexadas en *PubMed* del Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos.

El primer grupo de anticuerpos monoclonales que actúa

como antiinflamatorio, lo hace por bloqueo del TNF α : en 1998 se desarrolló el anticuerpo quimérico terapéutico denominado *infiximab* para el tratamiento de enfermedades inflamatorias como la enfermedad de Crohn⁸.

También se emplea en el tratamiento de artritis reumatoidea, artritis reumatoidea juvenil, artritis psoriásica, colitis ulcerativa, espondilitis anquilosante y psoriasis de placa. *Infiximab* es un anticuerpo monoclonal quimérico humano-murino, que se conjuga con gran afinidad con las formas solubles y transmembrana del factor de necrosis tumoral (TNF α) pero no con la linfotoxina β (TNF β). *Infiximab* inhibe la actividad funcional del TNF α en una amplia gama de bioensayos *in vitro*. El compuesto previene la enfermedad en ratones transgénicos que desarrollan poliartrosis como resultado de la expresión constitutiva de TNF α humano, y cuando se lo administra una vez comenzada la enfermedad, permite la cicatrización de las articulaciones erosionadas. *In vivo*, *infiximab* forma rápidamente complejos estables con el TNF α , un proceso que cumple un curso paralelo a la pérdida de la bioactividad de TNF α (ANMAT).

En la artritis reumatoidea, el tratamiento con *infiximab* reduce la infiltración de células inflamatorias en las áreas inflamadas de las articulaciones, así como la expresión de moléculas mediadoras de la adhesión celular, la quimioatracción y la degradación tisular. Después del tratamiento con *infiximab* se observan concentraciones séricas más bajas de interleuquina-6 (IL-6) y de proteína C-reactiva (PCR), en comparación con los valores basales. Además los linfocitos de sangre periférica no presentan una disminución significativa en el número o en las respuestas proliferativas a la estimulación mitogénica *in vitro* cuando se los compara con las células de los pacientes no tratados. En los pacientes psoriásicos, el tratamiento con *infiximab* produce disminución de la inflamación epidérmica y normalización de la diferenciación de queratinocitos en las placas psoriáticas (ANMAT).

El tratamiento de pacientes con enfermedad de Crohn con *infiximab* también se asoció con una reducción sustancial de la proteína C reactiva (PCR), un marcador inflamatorio sérico normalmente elevado. Los recuentos leucocitarios periféricos totales se encuentran mínimamente afectados en los pacientes tratados con *infiximab*, aunque los cambios en los linfocitos, monocitos y neutrófilos reflejan desplazamientos hacia valores normales. Las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de los pacientes tratados con *infiximab* muestran que no hubo una disminución en la respuesta proliferativa a los estímulos en comparación con los pacientes tratados, y tampoco se observan cambios sustanciales en la producción de citoquinas por parte de la CMSP estimuladas con posterioridad al tratamiento con la droga. El análisis de las células mononucleares de la lámina propia obtenidas por biopsia de la mucosa intestinal demuestra que el tratamiento con *infiximab* causó una disminución en el número de células capaces de expresar TNF α e interferón γ (IFN- γ). Otros estudios histo-

lógicos ofrecen evidencias de que el tratamiento con *infliximab* reduce la infiltración de células inflamatorias en las áreas afectadas del intestino y la presencia de marcadores inflamatorios en estos sitios (ANMAT).

El *etanercept* es una molécula que está formada por parte del receptor para el TNF α fusionado al dominio Fc de la IgG1 humana que neutraliza al TNF α y a la linfotóxina α . Es una proteína dimérica de fusión que lleva el dominio CH2 y CH3 del Fc de la IgG1 que media la unión a los receptores Fc, la cual culmina con la liberación de granzimas y perforinas provenientes de células NK y la lisis de la célula blanco. El *etanercept* es producido por expresión de la proteína por transfección de ADN recombinante en células de ovario de hamster chino. Tiene un peso molecular aproximado de 150 kilodalton y posee 934 aminoácidos. El *etanercept* actúa por cuatro mecanismos: a.- inhibición de la función efectora mediada por TNF α transmembrana. b.- destrucción de las células TNF α por citotoxicidad dependiente de complemento (CDC). c.- destrucción de células que llevan TNF α por citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). d.- destrucción de células que llevan el TNF α , por señalización. *Etanercept* no lleva el dominio CH1 que es requerido para la activación del componente del sistema complemento C3. El entrecruzamiento (*cross-linking*) del *etanercept* incrementa la apoptosis. Esta molécula inhibe la actividad del TNF α por unión competitiva a él y previene las interacciones con los receptores de la superficie celular. La producción de quemoquinas y la expresión de moléculas de adhesión por los queratinocitos y las células endoteliales vasculares pueden ser estimuladas por el TNF α producido dentro de la lesión psoriática. Estos signos causan reclutamiento de células inflamatorias adicionales dentro de las placas psoriáticas. Las respuestas biológicas inducidas o reguladas por TNF α son moduladas por *etanercept*, que puede además, modular las respuestas biológicas controladas por otras moléculas (por ejemplo, citoquinas, moléculas de adhesión o proteínas) que son inducidas o reguladas por el TNF- α . El *etanercept* inhibe la actividad del TNF α *in vitro* y ha mostrado tener efectos sobre varios modelos de inflamación en animales, incluyendo la artritis inducida por colágeno en ratones.

La espondiloartritis axial es una enfermedad inflamatoria crónica. Los tratamientos con bloqueantes del TNF- α están aprobados y se encuentran en etapas de evaluación los anticuerpos monoclonales dirigidos contra IL-17A (*secukinumab*), interleuquina 12/23 (*ustekinumab*) así como los inhibidores de la fosfodiesterasa-4 y las quinasas⁹.

El *adalimumab* es un anticuerpo IgG1k completamente humano producido por la tecnología de *phage display* que contiene solamente secuencias aminoácidas humanas. Se une con gran afinidad y especificidad al TNF- α soluble pero no a la linfotóxina (TNF- β). El *adalimumab* neutraliza la función biológica del TNF- α mediante el bloqueo de su interacción con los receptores p55 y p75 para TNF- α en la superficie celular. En la psoriasis en placas también se encuentran valores elevados de TNF- α . En esta enfermedad,

el tratamiento con *adalimumab* puede reducir el espesor de la epidermis y la infiltración de células inflamatorias. El *adalimumab* también modula las respuestas biológicas inducidas o reguladas por el TNF- α , incluidas las modificaciones en los niveles de las moléculas de adhesión responsables de la migración leucocitaria (ELAM-1, VCAM-1 e ICAM-1).

El *certolizumab pegol* neutraliza la forma soluble y transmembrana del TNF α ; la combinación con polietilenglicol (PEG) aumenta la vida media. Es un fragmento Fab del anticuerpo monoclonal humanizado conjugado a polietilenglicol que se une y neutraliza TNF- α humano. *Certolizumab pegol*, *infliximab* y *adalimumab*, pero no *etanercept*, inhiben completamente la liberación de IL-1 inducida por lipopolisacáridos en monocitos y este mecanismo podría tener relevancia en el tratamiento de la psoriasis artrítica¹⁰.

El *golimumab* es un anticuerpo IgG1k completamente humano específico para el TNF- α creado usando ratones genéticamente modificados.

Los antagonistas de TNF- α son los que presentan más éxito como antiinflamatorios¹¹⁻¹⁴.

Otro grupo de medicamentos empleados en los procesos inflamatorios son los anticuerpos monoclonales dirigidos contra componentes del sistema complemento, los cuales son mediadores potentes en la inflamación. Los anticuerpos que bloquean la cascada del complemento a nivel de C5 pueden ambos prevenir el establecimiento de la artritis, bloqueando la generación de los factores quimiotácticos y proinflamatorios C5 y C5b-9. Un anticuerpo humanizado para tales indicaciones crónicas ha sido desarrollado pero el fragmento scFv anti-C5 (fragmento de la región variable de simple cadena) se ha empleado debido a su rápida penetración en el tejido y ha mostrado tener la capacidad de inhibir completamente la actividad suministrándose a numerosos pacientes¹⁵.

La unión de los leucocitos al endotelio vascular es un evento temprano en el reclutamiento leucocitario¹⁶. El proceso inflamatorio también se puede controlar por bloqueo de las moléculas de adhesión tales como las selectinas y las integrinas sobre el endotelio o sobre el leucocito, siendo empleados los anticuerpos anti- α L integrina CD11a, LFA-1 y antesubunidad α 4 de las integrinas α 4 β 1 y α 4 β 7.

Un anticuerpo monoclonal humano diseñado por ingeniería genética con especificidad por la E-selectina es capaz de bloquear la acumulación de leucocitos, de tal manera que no tenga lugar la unión de factores del complemento, ni tampoco la unión de receptores Fc, ya que estas interacciones pueden exacerbar el proceso inflamatorio. Este anticuerpo es una IgG4 que lleva una mutación en el dominio CH2, leucina 235 a alanina con el fin de construir una secuencia similar a la IgG2. Se ha demostrado que esta mutación reduce la alta afinidad de unión del receptor Fc. Este anticuerpo se ha empleado en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria de la piel conocida como psoriasis (ANMAT).

Los anticuerpos contra las integrinas leucocitarias y contra los receptores endoteliales han sido ensayados en

pacientes con artritis reumatoidea con éxito¹⁷, así como también se evaluó su efecto en la esclerosis múltiple.

Un anticuerpo monoclonal denominado *omalizumab* une específicamente a la IgE y reduce la densidad de receptores cargados con IgE sobre las células efectoras de esta inmunoglobulina. Este anticuerpo se emplea en el tratamiento del asma alérgico; se une a la IgE secretada y previene la ocupación de los receptores de alta afinidad para la IgE (FcεR1) sobre los mastocitos y los basófilos. Actúa por dos mecanismos: secuestrando la IgE circulante y regulando negativamente la expresión de receptores en la superficie celular. Los mastocitos y los basófilos son fuente de quimioquinas proinflamatorias, citoquinas y proteasas, por lo que este anticuerpo tiene efectos antiinflamatorios al reducir la eosinofilia de las vías aéreas¹⁸.

Un anticuerpo monoclonal humanizado denominado *natalizumab* se une a la integrina $\alpha_4\beta_1$ de los leucocitos, bloquea la unión de las células endoteliales cerebrales y reduce, de esta manera, la inflamación de la barrera hematoencefálica, en pacientes con esclerosis múltiple¹⁹. Bloquea la interacción con su receptor análogo, la molécula de adhesión de células vasculares 1 (VCAM-1), y a los ligandos osteopontina y segmento de conexión I (CS-I), un dominio alternativamente dividido de la fibronectina.

Otro grupo de anticuerpos monoclonales terapéuticos en los procesos inflamatorios lo constituyen aquellos que producen una depleción y conllevan a la señalización celular: los anticuerpos que se unen a antígenos de superficie, por ejemplo anti-CD20, anti-CD22 y anti-CD52. *Rituximab*, un anticuerpo quimérico específico anti-CD20 fue aprobado en 2005 para el tratamiento de la artritis reumatoidea y el *alemtuzumab* se ensayó en esclerosis múltiple. *Epratuzumab* es un anti-CD22 humanizado que ha sido estudiado en lupus eritematoso. Esta clase de anticuerpos terapéuticos opera principalmente a través de la depuración del antígeno mediado por los FcγR.

La internalización mediada por los anticuerpos puede disminuir el número de complejos accesibles anticuerpo-antígeno que afectan tanto a la depleción mediada por CDC y la ADCC de la célula blanco.

Los anticuerpos anti-CD3 producen la internalización del complejo TCR-anticuerpo. El entrecruzamiento *in vitro* de células T con *teplizumab* induce la liberación de Ca^{2+} intracelular y la producción de citoquinas como IL-10, con proliferación de linfocitos T CD4 y linfocitos T regulatorios CD8⁺CD25⁺CTLA4⁺FOXP3⁺.

Se han desarrollado anticuerpos biespecíficos dirigidos contra las citoquinas proinflamatorias IL- α e IL- β , así como contra IL-12 e IL-18 y contra IL-17a e IL-23 ya que es relevante el papel de las células Th17 en los procesos inflamatorios²⁰.

El tratamiento de la inflamación del tejido sinovial en artritis reumatoidea se ha focalizado en los últimos años en el empleo de anticuerpos monoclonales dirigidos contra la IL-17a. Entre ellos se encuentran el *secukinumab*, el *ixeki-*

zumab, y el *brodalumab* dirigido contra la subunidad A del receptor de IL17A²¹.

Existen diferentes anticuerpos monoclonales nuevos que se están probando en ensayos clínicos. Los costos de estos tratamientos son altos y la industria farmacéutica está parcialmente abocada a la obtención de nuevos anticuerpos para disminuir los posibles efectos adversos.

Referencias bibliográficas

1. Kohler, G., and Milstein, C. [1975] Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity, *Nature* 256, 495-497.
2. Nilsson, K., Klein, G., Henle, W., and Henle, G. [1971] The establishment of lymphoblastoid lines from adult and fetal human lymphoid tissue and its dependence on EBV, *Int J Cancer* 8, 443-450.
3. Smith, G. P. [1985] Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface, *Science* 228, 1315-1317.
4. McCafferty, J., Griffiths, A. D., Winter, G., and Chiswell, D. J. [1990] Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains, *Nature* 348, 552-554.
5. Hoogenboom, H. R., Griffiths, A. D., Johnson, K. S., Chiswell, D. J., Hudson, P., and Winter, G. [1991] Multi-subunit proteins on the surface of filamentous phage: methodologies for displaying antibody (Fab) heavy and light chains, *Nucleic Acids Res* 19, 4133-4137.
6. Gladman, D. D., and Brockbank, J. [2000] Psoriatic arthritis, *Expert Opin Investig Drugs* 9, 1511-1522.
7. Laloux, L., Voisin, M. C., Allain, J., Martin, N., Kerboull, L., Chevalier, X., and Claudepierre, P. [2001] Immunohistological study of entheses in spondyloarthropathies: comparison in rheumatoid arthritis and osteoarthritis, *Ann Rheum Dis* 60, 316-321.
8. Stricker, T., and Braegger, C. P. [1998] Antibody to tumor necrosis factor in the treatment of Crohn's disease, *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 27, 369-370.
9. Poddubnyy, D. [2013] Axial spondyloarthritis: is there a treatment of choice?, *Ther Adv Musculoskelet Dis* 5, 45-54.
10. Chimenti, M. S., Saraceno, R., Chiricozzi, A., Giunta, A., Chimenti, S., and Perricone, R. [2013] Profile of certolizumab and its potential in the treatment of psoriatic arthritis, *Drug Des Devel Ther* 7, 339-348.
11. Strohal, R., Chimenti, S., Vena, G. A., and Girolomoni, G. [2013] Etanercept provides an effective, safe and flexible short- and long-term treatment regimen for moderate-to-severe psoriasis: a systematic review of current evidence, *J Dermatolog Treat* 24, 199-208.
12. van der Heijde, D., Kavanaugh, A., Gladman, D. D., Antoni, C., Krueger, G. G., Guzzo, C., Zhou, B., Dooley, L. T., de Vlam, K., Geusens, P., Birbara, C., Halter, D., and Beutler, A. [2007] Infliximab inhibits progression of radiographic damage in patients with active psoriatic arthritis through one year of treatment: Results from the induction and maintenance psoriatic arthritis clinical trial 2, *Arthritis Rheum* 56, 2698-2707.
13. Papoutsaki, M., Costanzo, A., Chimenti, M. S., and Chimenti, S. [2008] Adalimumab for the treatment of severe psoriasis and psoriatic arthritis, *Expert Opin Biol Ther* 8, 363-370.
14. Tracey, D., Klareskog, L., Sasso, E. H., Salfeld, J. G., and Tak, P. P. [2008] Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: a comprehensive review, *Pharmacol Ther* 117, 244-279.
15. Evans, M. J., Rollins, S. A., Wolff, D. W., Rother, R. P., Norin, A. J., Therrien, D. M., Grijalva, G. A., Mueller, J. P., Nye, S. H., Squinto, S. P., and et al. [1995] In vitro and in vivo inhibition of complement activity by a single-chain Fv fragment recognizing human C5, *Mol Immunol* 32, 1183-1195.
16. Springer, T. A. [1994] Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm, *Cell* 76, 301-314.
17. Kavanaugh, A. F., Davis, L. S., Nichols, L. A., Norris, S. H., Rothlein, R., Scharschmidt, L. A., and Lipsky, P. E. [1994] Treatment of refractory rheumatoid arthritis with a monoclonal antibody to intercellular adhesion molecule 1, *Arthritis Rheum* 37, 992-999.
18. Fahy, J. V. [2006] Anti-IgE: lessons learned from effects on airway inflammation and asthma exacerbation, *J Allergy Clin Immunol* 117, 1230-1232.
19. Johnson, K. P. [2007] Natalizumab (Tysabri) treatment for relapsing multiple sclerosis, *Neurologist* 13, 182-187.
20. Chan, A. C., and Carter, P. J. [2010] Therapeutic antibodies for autoimmunity and inflammation, *Nat Rev Immunol* 10, 301-316.
21. Kellner, H. [2013] Targeting interleukin-17 in patients with active rheumatoid arthritis: rationale and clinical potential, *Ther Adv Musculoskelet Dis* 5, 141-152.