

❖ TERAPIAS MOLECULARES DIRIGIDAS: DE LA INVESTIGACIÓN BÁSICA A LA CLÍNICA

Dra. María Giselle Peters*

Dr. Gabriel L. Fiszman**

***Investigador Adjunto CONICET. Departamento de Biología Celular. Área Investigación.**

****Jefe Departamento de Inmunobiología. Área Investigación.**

❖ TERAPIAS MOLECULARES. CONCEPTOS

El **cáncer** es una enfermedad compleja y multifactorial, en la cual se han identificado condiciones poligénicas y poliepigénicas, siendo estas últimas probablemente inducidas por ciertos estilos de vida y exposiciones ambientales. Las diferentes alteraciones genéticas que participan en el desarrollo y progresión del cáncer incluyen deleciones, amplificaciones, mutaciones puntuales del ADN y rearrreglos cromosómicos. La identificación, a través de la investigación básica, de las moléculas y/o vías de señalización intracelular relacionadas con la carcinogénesis y la progresión tumoral, ha permitido descubrir y desarrollar estrategias basadas en la utilización de moléculas con actividad biológica específicas o terapias moleculares dirigidas (TMD). Algunas TMD aprobadas recientemente son usadas en la práctica clínica diaria [1]. Las tecnologías de punta en genómica y proteómica pueden colaborar en la determinación de la respuesta *in vitro* e *in vivo* de las TMD.

El concepto de “**terapia dirigida**” fue obtenido de la idea de “bala mágica”, elaborada inicialmente por Paul Erlich a finales de 1800. Erlich describió una sustancia química con la capacidad de atacar específicamente a microorganismos. Un siglo más tarde, el progreso de la biología molecular contribuyó al entendimiento de los mecanismos subyacentes relacionados con la iniciación, promoción y progresión del cáncer. Las TMD comprenden agentes que bloqueando los oncogenes o las vías oncogénicas de señalización y pueden de manera secundaria detener la carcinogénesis y la progresión tumoral. Algunas de las drogas desarrolladas se muestran en la **Tabla I**. Todos estos agentes son utilizados en la práctica clínica o están en fase III y fundamentalmente se trata de anticuerpos monoclonales dirigidos contra el dominio de unión al ligando del receptor (ver más adelante: terapias basadas en anticuerpos) o el uso de moléculas pequeñas que inhiben la actividad de algunas

de las enzimas involucradas. Generalmente compiten por el sitio de unión a ATP de las quinasas.

Entre los blancos moleculares a los que apuntan las estrategias terapéuticas se encuentran receptores de factores de crecimiento, moléculas de señalización, proteínas del ciclo celular, moduladores de la apoptosis, moléculas involucradas en la invasión y la angiogénesis, y supresores metastásicos (**Figura 1**).

Tabla I. Principales blancos moleculares para el tratamiento de tumores sólidos.

DROGA	CLASE	MECANISMO DE ACCIÓN
• <i>Gefitinib</i>	Pequeña molécula (<i>anilinoquinazoline</i>)	Inhibidor de la TK de EGFR
• <i>Erlotinib</i>	Pequeña molécula (<i>quinazoline</i>)	Inhibidor de la TK de EGFR
• <i>Cetuximab</i>	Anticuerpo monoclonal	Bloqueante de EGFR
• <i>Panitumumab</i>	Anticuerpo monoclonal	Bloqueante de EGFR
• <i>Trastuzumab</i>	Anticuerpo monoclonal	Bloqueante de HER-2
• <i>Lapatinib</i>	Pequeña molécula	Inhibidor de EGFR y HER-2
• <i>Bevacizumab</i>	Anticuerpo monoclonal	Bloqueante de VEGF
• <i>Sorafenib</i>	Pequeña molécula multi- blanco	Inhibidor de la TK de VEGFR-2, VEGFR-3, PDGFRB, Raf, c-Kit, y Flt-3
• <i>Sunitinib</i>	Pequeña molécula multi- blanco	Inhibidor de la TK de VEGFR, PDGFR, cKit, y Flt-3

Abreviaturas: ch, quimérico; EGFR, *epidermal growth factor receptor*; HER-2, *human epidermal growth factor receptor 2*; hu, humano; PDGFR, *platelet-derived growth factor receptor*; TK, *tyrosine kinase*; VEGF, *vascular endothelial growth factor*.

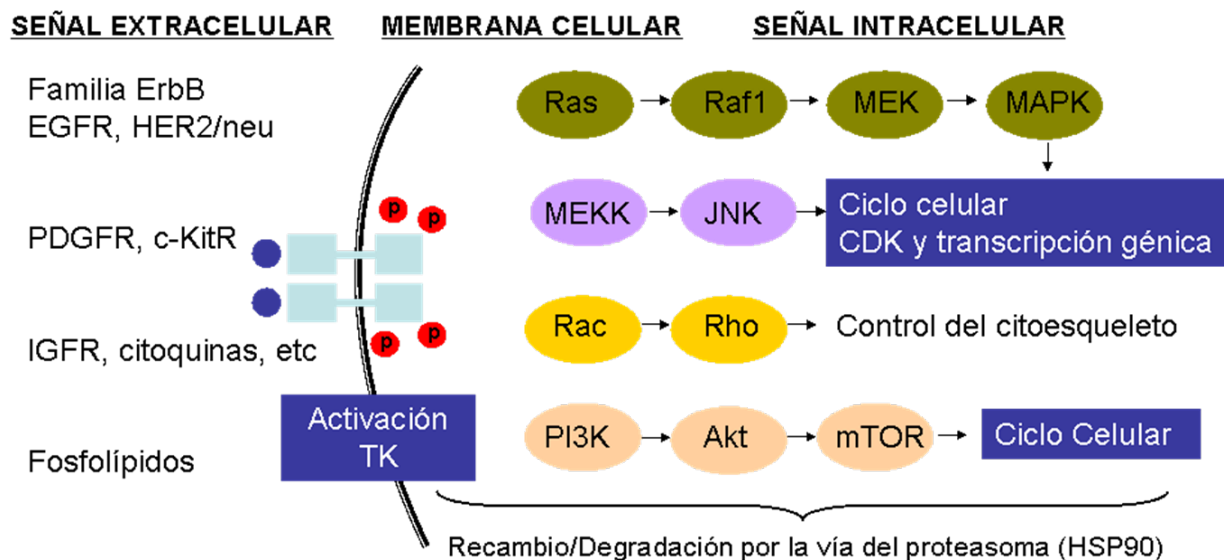


Figura 2. Blancos moleculares de las vías de la traducción de señales.

Los blancos empleados en la terapia molecular del cáncer incluyen receptores de factores de crecimiento, moléculas de señalización, proteínas del ciclo celular, moduladores de la apoptosis, y moléculas involucradas en la invasión y la angiogénesis.

En esta revisión, y con el objetivo de comprender las bases de las terapias moleculares, se describirán brevemente las principales vías de señalización involucradas en el desarrollo tumoral y las terapias contra el cáncer basadas en anticuerpos.

❖ **VIAS DE SEÑALIZACION INVOLUCRADAS EN EL DESARROLLO TUMORAL**

✓ **Vía Akt/PKB**

Entre las vías de señalización que responden a una amplia gama de señales, Akt posee un papel central en la regulación del metabolismo, la supervivencia celular, la motilidad, la transcripción génica y la progresión del ciclo celular. Akt pertenece a la subfamilia AGC de la superfamilia de proteínas quinasa, que en humanos consiste en 518 miembros y que se encuentra altamente conservada a lo largo de la evolución. En mamíferos existen tres isoformas, Akt1, Akt2 y Akt3 (también conocidas como PKB α , PKB β y PKB γ), que comparten una estructura conservada [2].

Akt es un componente río abajo clave en la señalización por Fosfatidil Inositol 3 quinasa (PI3K), que puede ser activada por a) receptores con actividad tirosina quinasa (RTKs), b) receptores acoplados a proteínas G y c) integrinas. Asimismo, la

vía Akt puede ser activada por señales mediadas por Ras o regulada negativamente por la fosfatasa PTEN.

Akt está probablemente involucrada en la resistencia a la apoptosis adquirida por gran parte de los tumores humanos. Esta quinasa promueve la supervivencia celular inhibiendo la apoptosis mediante la fosforilación inactivante de varios blancos, incluyendo *Bad*, el factor de transcripción *Forkhead*, *Caspasa-9*, *JNK* y *GSK3 β* . Además, puede activar blancos como NF κ B y MDM2 (inhibidor de p53), bloqueando de esta manera la muerte celular. Asimismo, se sabe que Akt regula negativamente los niveles de los CDKs p21 y p27, favoreciendo así la progresión del ciclo celular.

mTOR es otro blanco molecular de la vía el PI3K/Akt. Esta molécula juega un papel clave en el crecimiento celular y la homeostasis y es regulado de modo anormal en los tumores. Por estos motivos, mTOR está siendo actualmente investigado como un blanco potencial para la terapia anti-cáncer.

➤ **Vías MAPKs**

Las proteínas quinasas activadas por mitógeno (MAPKs), son serina-treonina quinasas que se fosforilan rápidamente después de la estimulación de una variedad de receptores de la superficie celular. Su función es convertir el estímulo extracelular en una señal intracelular que controla la expresión de genes esenciales para varios procesos, como crecimiento, diferenciación, muerte, transformación maligna y progresión del ciclo celular. Esta familia consta de 3 miembros: *extracellular-regulated kinase*(Erk), *c-jun NH2-terminal kinase* (JNK), y the *high osmolarity glycerol response kinase* p38 (Figura 2).

El camino de señalización de las MAPKs posee cuatro niveles de cascada, donde cada quinasa activa a su sustrato, otra quinasa, a través de una compleja red. En el último nivel, las MAPKs son fosforiladas en tirosina y treonina por las quinasas de la familia MEK (también llamadas MAPKKs o MKKs). La activación de las MAPKKs es mediada por otras quinasas denominadas MAPKKKs, y la activación de estas últimas es mediada por pequeñas proteínas G.

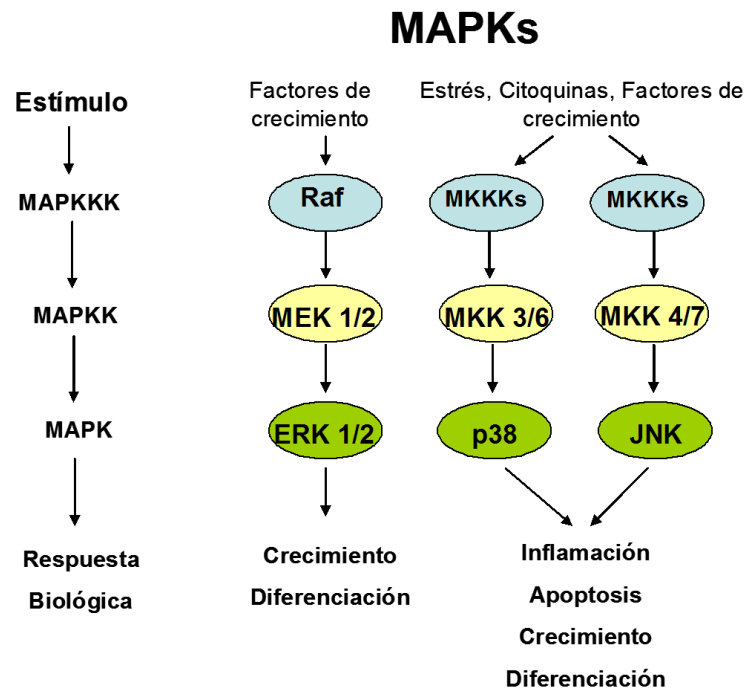


Figura 2. Esquema de las vías MAPKs

En el esquema se representan algunos de los miembros de la cascada MAPK. Mek1 y 2 fosforilan a Erk; MKK3, 4 y 6 fosforilan a p38 y MKK4 y 7 fosforilan a JNK. La proteína-G Ras activa la vía Erk mientras que Rac1, Cdc42, RhoA y RhoB activan las vías p38 y JNK.

➤ Vía MAPK Erk1/2

Erk1 y Erk2 son las isoformas “clásicas” de las MAPKs. Tanto Erk1 como Erk2 (llamadas Erk1/2) son activadas por MAP/Erk *kinase* 1 (MEK1) y MEK2 (llamadas MEK1/2), ambas miembros de la familia MAPKK. Una vez activados por una variedad de mitógenos, Erk1/2 fosforilan diversos sustratos, incluyendo factores de transcripción, como Elk1 y c-Myc, y proteínas quinasas, como la quinasa ribosómica S6 (RSK). De esta manera, se induce la expresión de genes tempranos, como c-Fos. Erk1/2 es, por lo tanto, un importante colaborador de la proliferación celular [3].

Tanto la duración como la intensidad de actividad Erk son importantes. La activación constitutiva de la vía de señalización MAPK Erk1/2 está asociada con la transformación neoplásica de una variedad de células tumorales humanas.

➤ Vía MAPK p38

El camino de señalización MAPK p38, regula varios procesos celulares incluyendo inflamación, producción de citoquinas, diferenciación, crecimiento y muerte celular. Existe una alta correlación entre la activación de este camino de señalización y

la apoptosis, aunque la función de p38 puede variar según el tipo celular [4]. Esta molécula es activada en respuesta a varios estímulos extracelulares, como radiación ultravioleta, estrés oxidativo, hipoxia, isquemia, shock osmótico y citoquinas inflamatorias como Interleuquina 1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α). La familia de MAPK p38 consta de 4 isoformas (α , β , γ , y δ).

Distintas evidencias sugieren que luego de su activación p38 se transloca al núcleo, aunque otros datos indican que p38 activado puede también estar presente en el citoplasma y en las mitocondrias. Entre la gran cantidad de moléculas reguladas por p38 se encuentra p53, típico promotor apoptótico a la remodelación del citoesqueleto.

➤ **Vía MAPK JNK**

Otra clase de MAPK está formada por un conjunto de enzimas activadas por el estrés celular, que reciben el nombre de SAPK (*stress activated protein kinase*) [5](1). Las SAPKs fueron identificadas por su capacidad de fosforilar el N-terminal del factor de transcripción c-jun, por lo tanto han recibido también el nombre de quinasas de c-jun (JNKs). La familia incluye 3 isoformas denominadas JNK 1, 2 y 3 [5].

Este camino de señalización además de ser activado por estrés, responde a factores de crecimiento. De modo similar a p38, media señales que regulan la muerte celular programada, la producción de citoquinas y la progresión del ciclo celular.

Entre los genes blanco modulados por esta vía se encuentran Ciclina A2 y COX-2 [5]. JNK tiene además un papel central en la vía Wnt no canónica, induciendo apoptosis y reestructuración del citoesqueleto de actina.

➤ **Vía Wnt**

Los Wnt son poderosos reguladores de la proliferación y la diferenciación celular, y su camino de señalización involucra proteínas que participan directamente en la transcripción génica y en la adhesión celular. Los Wnt son glicoproteínas secretadas al medio por distintos tipos celulares que actúan mayormente de modo parácrino. Han sido descritos hasta el momento 19 factores Wnts que se expresan en mamíferos.

La alteración de la vía de señalización Wnt ha sido identificada como un evento clave en el desarrollo neoplásico [6].

Recientemente ha sido determinado que la vía Wnt incluye al menos tres subvías a) la vía canónica, b) la vía no-canónica o de polaridad celular planar (PCP) y c) la vía dependiente de calcio (Figura 3). En un principio se postuló que cada factor Wnt interactuaba con receptores específicos que estimulaban una subvía en particular.

Sin embargo, hoy se conoce que un factor Wnt puede estimular distintas subvías según el entorno celular.

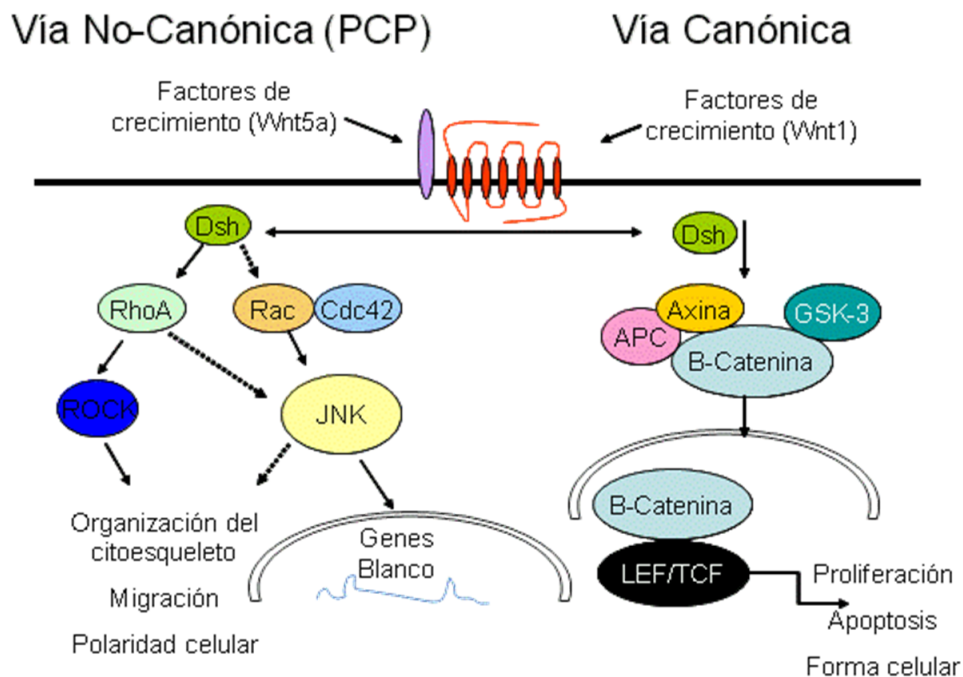


Figura 3. Esquema de las vías Wnt canónica y no canónica

La activación de estos caminos de señalización se produce luego de la interacción de los factores Wnt con los receptores de la familia Frizzled de siete pasos transmembrana. El hecho de que las vías compartan elementos *upstream* podría jugar un papel importante en la regulación de las mismas.

➤ **Vía Wnt canónica**

β -Catenina es la molécula clave de la vía canónica, la cual además de actuar como un cofactor de transcripción [7], es un adaptador estructural entre Cadherinas y el citoesqueleto de actina.

En ausencia de estímulo, β -Catenina se une a un complejo de degradación integrado por proteínas como APC, CKI y GSK3 β . La asociación de β -Catenina con dicho complejo resulta en su fosforilación, induciéndose así su ubiquitinación y degradación por el proteosoma.

Esta vía es activada por factores Wnt considerados canónicos, como por ejemplo: Wnts 1, 3A, 8, 2B y 7A. Luego de la interacción con el receptor, la señal es transmitida mediante la fosforilación de la molécula Dishevelled (Dsh), que inhibe la degradación de β -Catenina al bloquear la función de la quinasa GSK3 β . En estado de

activación la β -Catenina se estabiliza, para luego translocarse al núcleo donde se asocia a los factores de transcripción de la familia TCF/LEF (Factor de células T/Factor de estimulación linfoide) y regula la expresión de genes de supervivencia celular como *myc* y Ciclina D1, así como la expresión de moléculas de adhesión (CD44 y E-Cadherina) y de componentes de la matriz extracelular (Colágeno tipo I).

La proteína β -Catenina también se encuentra involucrada en la adhesión celular ya que se asocia a la glicoproteína transmembrana E-Cadherina, formando los complejos de adhesión célula-célula. De esta manera, las Cadherinas pueden influir sobre la señalización Wnt secuestrando β -Catenina. La sobreexpresión de Cadherinas ha demostrado ser antagonista de las funciones de señalización de β -Catenina.

➤ **Vía Wnt no canónica**

La vía Wnt no canónica tiene como molécula central a JNK y está involucrada en procesos morfogénicos, modulando el citoesqueleto y la polaridad celular. Esta vía es activada luego de la estimulación con factores como Wnt 5A y 11, los que interactúan con los receptores de la familia Frizzled y otras moléculas que activan a pequeñas GTPasas y a JNK mediante la fosforilación de Dsh [8]. Entre las pequeñas GTPasas se encuentran las de la familia Rho: RhoA, Rac1 y Cdc42.

❖ **GENES SUPRESORES METASTÁSICOS. IMPLICANCIAS TERAPÉUTICAS**

Aunque la cascada metastásica requiere múltiples pasos para ser completada, la eliminación de un solo eslabón de esta cadena sería capaz de frustrar el proceso [9]. Se han descrito una serie de moléculas, denominadas supresores metastásicos, capaces de inhibir el desarrollo de metástasis. Así, la restauración de proteínas supresoras de metástasis en células tumorales capaces de metastatizar podría producir un beneficio clínico en aquellos pacientes en los que el proceso metastásico no haya sido completado [10]. Básicamente, hay tres maneras de restaurar funcionalmente a las proteínas supresoras de metástasis: a) reconstituir la expresión del supresor metastásico mediante la inducción del locus endógeno o por terapia génica, b) administrar la proteína supresora de manera directa, c) activar las vías *downstream* que son moduladas por la proteína supresora. La selección de estos criterios dependerá del defecto que condujo a la pérdida de expresión de la proteína supresora metastásica.

Nuestro grupo, perteneciente al Área Investigación del Instituto Ángel H. Roffo, utilizando un modelo de cáncer de mama murino [11] y en cáncer de mama humano

[12] ha identificado a Glipicano-3 (GPC3) como una molécula capaz de inhibir el desarrollo de metástasis pulmonares. Al igual que otros supresores metastásicos, GPC3 modula vías de señalización implicadas en el crecimiento, la viabilidad, la adhesión y la motilidad celular [6, 12]. Dado su potencial clínico, nuestro grupo se encuentra actualmente profundizando el análisis de su red de señalización molecular.

❖ **TERAPIA DEL CANCER BASADA EN ANTICUERPOS MONOCLONALES. MECANISMO DE ACCION Y RESISTENCIA**

Desde la generación de la primera célula productora de anticuerpos monoclonales (AcMo) en el año 1975 por Georges Köhler y César Milstein, esta tecnología ha avanzado de tal modo que los AcMo finalmente son considerados como proteínas líderes de la industria biofarmacéutica del siglo XXI.

Los atributos de calidad son críticos a la hora de elegir un Ac como agente terapéutico para el cáncer. El diseño de la estructura molecular y su generación biotecnológica están directamente vinculados a la estrategia diagnóstica y/o terapéutica buscada [13]. En la actualidad existen numerosas alternativas innovadoras para generar anticuerpos [14] que se discuten en este resumen.

❖ **LA TECNOLOGÍA DE HIBRIDOMAS**

La tecnología clásica para producir AcMo es el establecimiento de líneas celulares de hibridomas capaces de secretar Acs específicos contra un inmunógeno predefinido. Los hibridomas se generan mediante la fusión de linfocitos inmunes (usualmente células esplénicas de ratones inmunizados con el antígeno de interés), con líneas celulares de mieloma adaptadas para crecer en cultivo. Así, estas células híbridas heredan la propiedad del linfocito de producir inmunoglobulinas (Igs) específicas y la capacidad del mieloma de crecer indefinidamente en cultivo. Una vez generada la nueva línea celular, se clona para asegurarse el origen monoclonal y finalmente establecidos, los hibridomas pueden producir los AcMo en cantidades inagotables, en forma homogénea de fácil purificación.

Los AcMo han contribuido ampliamente en todos los aspectos que hacen al enfoque clínico del cáncer: diagnóstico, tratamiento y seguimiento. En el área de la oncología se han generado AcMo contra antígenos de superficie y contra moléculas secretadas por células de una amplia variedad de tumores [15]. Estos Acs han permitido un mayor conocimiento sobre la ontogenia y biología de las células tumorales, desarrollo de nuevos métodos y clasificación y diagnóstico, incremento en la especificidad y sensibilidad del monitoreo y localización de la actividad tumoral, el

desarrollo de la anatomía patológica asociada a la inmunohistoquímica y la generación de esquemas de inmunoterapia antitumoral superiores en especificidad a los empleados anteriormente.

❖ **ANTICUERPOS MONOCLONALES HUMANOS Y RECOMBINANTES**

El desarrollo de la biotecnología de hibridomas, que permite obtener AcMo de origen murino, es altamente eficiente; sin embargo, presenta ciertos obstáculos como la dificultad de administrar sustancias xenogéneas a pacientes por el posible rechazo o la disminución de la respuesta como consecuencia de la generación de anticuerpos humanos anti-ratón o HAMA (*human anti-mouse antibodies*). Para superar estas limitaciones, ha surgido la alternativa de producir AcMo de origen humano (AcMoHu). La eficiencia de producción de AcMoHu por la metodología clásica de hibridomas, fue bastante inferior a la obtenida con hibridomas murinos. Por lo tanto, se han implementado metodologías alternativas como la construcción de AcMoHu “artificiales” empleando la tecnología de ADN recombinante, también llamada ingeniería de Acs o Acs recombinantes [14]. Estas nuevas estrategias pueden complementarse con la tecnología de hibridomas mediante la “humanización” de AcMo murinos o recuperar del Ac las regiones de unión específica y fusionarlas con otras proteínas de interés clínico tanto para diagnóstico como terapéuticos. Entre los ejemplos de mayor aplicación de estas biotecnologías para la generación de AcMoHu, está la producción de anticuerpos quiméricos murino-humano. En estas construcciones se conservan las regiones variables (VH y VL) del Ac original del ratón o de rata y el resto de la Ig es humana (60-70% de moléculas humanas). En el caso de AcMo humanizados, sólo las CDR (regiones determinantes de la complementariedad, o sea los sitios específicos de unión al antígeno) y unos pocos residuos adicionales, son transplantados en un “contexto” totalmente humano (framework y o regiones constantes). De esta forma se construye un Ac “98% humano”, con las funciones efectoras propias de las Igs humanas, conservándose la especificidad del AcMo original murino, y reduciéndose las posibilidades de reacciones humano anti-murino, aumentando la eficacia terapéutica (*Figura 4*).

Un abordaje más reciente es el uso de ratones transgénicos en los que se remueven los genes de la Ig murina y son reemplazados por su contraparte humana. Estos ratones pueden ser inmunizados con el antígeno de interés para continuar luego con la metodología convencional de hibridomas o bien recuperar los genes del CDR de la Ig y construir un Ac recombinante terapéutico totalmente humano.

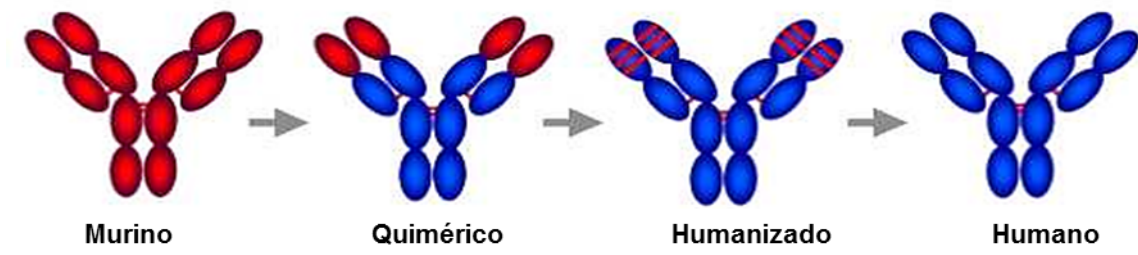


Figura 4. Anticuerpos monoclonales recombinantes

Los anticuerpos obtenidos por la biotecnología de hibridomas son murinos (0% humanos) y pueden convertirse en Acs quiméricos (66% humanos), humanizados (98% humanos) o totalmente humanos.

❖ **FRAGMENTOS DE ANTICUERPOS**

Otra alternativa que propone esta tecnología es la construcción de fragmentos de Ac producidos en microorganismos. Estas moléculas conservan la capacidad de unirse a un Ag específico y tienen un tamaño molecular inferior al de los Ac enteros [16]. Desde hace muchos años se demostró que era posible producir fragmentos recombinantes de anticuerpos tipo Fab, Fv y scFv tanto en bacterias como en levaduras, que podían recuperarse del periplasma bacteriano o del medio de cultivo de las levaduras en forma activa. Los fragmentos Fv están constituidos por los dominios variables (V) de las cadenas ligera (L) y pesada (H), sin enlaces covalentes intercatenarios que mantengan esta estructura, siendo de este modo relativamente inestables. Los fragmentos scFv (single chain Fv, o Fv de cadena simple), son construcciones genéticas en las cuales se ha creado un segmento de unión entre los extremos de los genes que codifican para la VH y la VL, de forma que ambas cadenas se sintetizan unidas, como una sola proteína. En este sentido, es ampliamente utilizada la tecnología de *Phage display*, donde se expresan bibliotecas de fragmentos de Ac humanos en bacterias, que luego son seleccionadas mediante un método de inmunoquímico adecuado para aislar la molécula con la especificidad buscada.

Para mejorar el rendimiento de la terapéutica del cáncer, se han desarrollado estrategias atractivas como la miniaturización de los Ac. Los llamados nano-anticuerpos, consisten en pequeños fragmentos de anticuerpos de dominio de unión único al antígeno. Los nano-anticuerpos se están convirtiendo en prometedoras proteínas terapéuticas y de diagnóstico en oncología debido a sus únicas y favorables propiedades estructurales y funcionales [17].

❖ **ANTICUERPOS BIESPECÍFICOS**

Las propiedades naturales de los anticuerpos que permiten unirse a un antígeno específico pueden ser aprovechadas y mejoradas por la ingeniería de Ac para aumentar la actividad antitumoral. Un ejemplo es la generación de anticuerpos biespecíficos (AcMoBi) con afinidades dobles para dos antígenos tumorales diferentes o contra un Ag tumoral y un “blanco” en el microambiente tumoral o el sistema inmune [18]. En nuestro laboratorio del Instituto Roffo, generamos AcMoBi contra el antígeno tumoral CEA y contra el Ag CD3 de linfocitos T. Otro ejemplo actual es el Ac Blinatumomab, que se une a CD19 (sobre la célula tumoral) y CD3. Un enfoque original desarrollado hace varios años, es un AcMo trifuncional, como el Catumaxomab, que se une por un “brazo” del Ac al antígeno tumoral EpCAM, por otro al CD3 y a través del Fc es capaz de unirse a células efectoras del sistema inmune como macrófagos, NK o dendríticas.

➤ **OTRAS TERAPIAS BASADAS EN ANTICUERPOS**

Otra plataforma para la terapia del cáncer basada en Ac, desarrollada recientemente, son las células CAR T (*chimeric antigen receptor T cells*), donde las células T (linfocitos T citotóxicos) o células NK se modifican genéticamente para expresar la región variable de un Ac que reconoce un Ag tumoral, de tal manera de direccionar el sistema inmune hacia el tumor [14].

Finalmente, el bloqueo de los *checkpoint* inmunológicos (ya discutidos en otro capítulo de esta misma edición) representan nuevas estrategias terapéuticas de los AcMo con un futuro prometedor. Son un ejemplo de ellos los AcMo Ipilimumab (anti-CTLA-4) y Nivolumab (anti-PD1).

➤ **NOMENCLATURA DE LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES**

La nomenclatura de los AcMo parece dificultosa, pero en general sigue una norma común y nos informa acerca de la naturaleza del Ac (ver Tabla II). La terminación “**mab**” es un sufijo común y es precedida por letras que sugieren el origen o la fuente: murinos (sufijo -omab), quiméricos (sufijo -ximab), humanizados (sufijo -zumab), o como completamente humanos (sufijo -umab). La denominación común internacional antepone a estos sufijos una sílaba que informa sobre su actividad, enfermedad o blanco. Como por ejemplo: “colo”, colon; “ci”, vasculares o cardiovasculares; “li”, linfocitos u otras células inmunocompetentes; “pro”, próstata; “tu”, tumores; “vi”, infecciones virales, etc. Precedidos por un prefijo que es variable, dependiendo del laboratorio o grupo de investigación que lo originó.

Tabla II: Nomenclatura de los anticuerpos monoclonales

PREFIJO	BLANCO		FUENTE		SUFIJO
<i>variable</i>	-o(s)-	tumor óseo	-u-	humano	<i>-mab</i>
	-vi(r)-	virus	-o-	ratón	
	-ba(c)-	bacteria	-a-	rata	
	-li(m)-	Sistema inmune	-e-	hamster	
	-le(s)-	Lesiones infecciosas	-i-	primate	
	-ci(r)-	cardiovascular	-xi-	quimérico	
	-mu(l)-	Músculo esquelético	-zu-	humanizado	
	-ki(n)-	interleuquina	-axo-	híbrido rata/ratón	
	-co(l)-	tumor de colon	-xizu-	quimérico + humanizado	
	-me(l)-	melanoma			
	-ma(r)-	tumor de mama			
	-go(t)-	tumor testicular			
	-go(v)-	tumor de ovario			
	-pr(o)-	tumor de próstata			
	-tu(m)-	tumor (en general)			
-neu(r)-	Sistema nervioso				
-tox(a)-	toxina				
-fu(ng)-	hongo				
RI	TU		XI	MAB	
BEVA	CI		ZU	MAB	
PANI	TUM		U	MAB	

❖ MECANISMO DE ACCION DE LOS ANTICUERPOS TERAPEUTICOS

Se han descrito varios mecanismos de acción de los anticuerpos terapéuticos contra las células tumorales [15, 19]

➤ ACCIÓN DIRECTA DEL ANTICUERPO

La muerte directa de células tumorales puede ser provocada por la actividad agonista del receptor, dando lugar a la apoptosis. También puede estar mediado por la actividad antagonista del receptor por ejemplo, bloqueando la dimerización e inhibiendo la activación de la quinasa y la señalización intracelular, lo que conduce a una disminución de la proliferación y la muerte celular (ej. los AcMo Rituximab y Trastuzumab). Los anticuerpos conjugados, pueden usarse para dirigir específicamente hacia una célula tumoral otras moléculas terapéuticas, como un fármaco (ej. AcMo TDM-1, que es el Trastuzumab unido a Emtasina), toxina, ARN pequeño de interferencia o radioisótopo (ej. Tositumomab).

➤ MUERTE CELULAR MEDIADA POR EL SISTEMA INMUNE

Puede deberse a la inducción de la fagocitosis o citotoxicidad celular dependiente de fagocitosis (ADCP), la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) (ej. el AcMo Alemtuzumab), la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) como la de numerosos AcMo utilizados en la clínica (Rituximab, Trastuzumab, Cetiximab) y finalmente mediante la regulación de la función de células T. La función Fc de los anticuerpos es particularmente importante para mediar en la destrucción de células tumorales a través de CDC y ADCC.

➤ **MECANISMOS INDIRECTOS**

Se deben a efectos sobre la vasculatura o el estroma tumoral. Son consecuencia de la acción de los anticuerpos contra receptores en la vasculatura tumoral o de moléculas mediadores solubles relacionadas con la inhibición de la angiogénesis (Bevacizumab es un anti-VEGF). También se puede actuar sobre receptores o mediadores de células del estroma tumoral. Estos Ac pueden estar conjugados o asociados con células del sistema inmune para incrementar el efecto citotóxico.

Es probable que un mismo anticuerpo actúe por más de uno de los mecanismos descritos anteriormente.

Aunque la mayoría de los anticuerpos que han tenido éxito en la clínica son moléculas de IgG intactas, se está utilizando cada vez con mayor frecuencia la construcción de Ac terapéuticos conjugados a drogas y radionucleidos, como así también proteínas de fusión conteniendo regiones específicas de Ac para el suministro de fármacos citotóxicos y modulación del sistema inmune contra el tumor. En la actualidad existe una amplia gama de enfoques desarrollados por ingeniería de anticuerpos que se encuentran en fase clínica de investigación [14] y que muy pronto estarán disponibles para la clínica oncológica.

➤ **MECANISMOS DE ESCAPE TUMORAL Y RESISTENCIA AL TRATAMIENTO**

Existen múltiples mecanismos por los cuales puede no lograrse el efecto terapéutico deseado utilizando Ac en pacientes con tumores malignos. Estos mecanismos de escape tumoral y resistencia al tratamiento con anticuerpos se resumen en la *Tabla III*.

Tabla III: Mecanismos de falta de respuesta tumoral al tratamiento con anticuerpos y resistencia

PROPIEDAD TERAPÉUTICA DEL ANTICUERPO	JUSTIFICACIÓN DE LA FALTA DE RESPUESTA TERAPÉUTICA
Dirigido al receptor o antígeno tumoral.	<i>Heterogeneidad o mutación del receptor o antígeno (inicial o adquirida); disminución de la expresión del receptor o del antígeno.</i>
Farmacocinética	<i>Estabilidad del Ac, inmunogenicidad y vida media.</i>
Penetración y concentración en el tumor	<i>Permeabilidad vascular, presión intersticial del tumor, tamaño y afinidad del Ac.</i>
Ocupación del receptor	<i>Baja concentración de anticuerpo-receptor, saturación del receptor y bloqueo ineficaz de la dimerización y señalización del receptor.</i>
Bloqueo de la vía de señalización	<i>La vía de señalización no es relevante para el crecimiento tumoral, la presencia inicial o desarrollo de vías compensatorias.</i>
Función efectora inmune	<i>Isotipo del anticuerpo, polimorfismos de FcγR, escape inmune (disfunción de células NK) e inhibición del complemento.</i>
Inducción de respuesta de células T	<i>Inmuno supresión; por ejemplo, a través de células T regulatorias</i>
Conjugado con drogas u otras moléculas	<i>Concentración inadecuada en el tumor, resistencia tumoral y farmacológica (de novo o adquirida)</i>

La inhibición o bloqueo de las vías de señalización intracelular y de receptores asociados, son unos de los principales mecanismos de muerte celular en las terapias basadas en anticuerpos y en la resistencia adquirida. Uno de los mecanismos de resistencia más estudiados ha sido el de Trastuzumab en el cáncer de mama HER2+ y es el que estamos investigando en nuestro Laboratorio del Dto. de Inmunobiología del Instituto [20]. Utilizando un modelo de cultivo celular en 3D hemos podido determinar la participación de las células stem tumorales como uno de los mecanismos involucrados en la resistencia al tratamiento [21].

➤ CONCLUSIÓN

El entendimiento de las bases moleculares de la progresión tumoral aumenta las posibilidades de modificar el curso de la enfermedad. Los conocimientos que se obtienen a partir de la investigación básica de las moléculas y/o las vías de señalización implicadas en la iniciación, promoción y progresión del cáncer ofrecen una importante oportunidad para el desarrollo de terapias “inteligentes” (o terapias moleculares dirigidas), pudiéndose combinar la terapia estándar con agentes específicos contra un blanco particular.

BIBLIOGRAFIA

1. Agarwal R, Liebe S, Turski ML, Vidwans SJ, Janku F, Garrido-Laguna I, et al. Targeted therapy for genetic cancer syndromes: Von Hippel-Lindau disease, Cowden syndrome, and Proteus syndrome. *Discovery medicine*. 2015;19 (103):109-16.
2. Hanada M, Feng J, Hemmings BA. Structure, regulation and function of PKB/AKT-- a major therapeutic target. *Biochimica et biophysica acta*. 2004;1697 (1-2):3-16.
3. Lewis TS, Shapiro PS, Ahn NG. Signal transduction through MAP kinase cascades. *Adv Cancer Res*. 1998;74:49-139.
4. Johnson GL, Lapadat R. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. *Science*. 2002;298 (5600):1911-2.
5. Platanias LC. Map kinase signaling pathways and hematologic malignancies. *Blood*. 2003;101(12):4667-79.
6. Stigliano I, Puricelli L, Filmus J, Sogayar MC, Bal de Kier Joffe E, Peters MG. Glypican-3 regulates migration, adhesion and actin cytoskeleton organization in mammary tumor cells through Wnt signaling modulation. *Breast Cancer Res Treat*. 2009; 114(2):251-62.
7. Cadigan KM, Nusse R. Wnt signaling: a common theme in animal development. *Genes Dev*. 1997; 11(24):3286-305.
8. Boutros M, Paricio N, Strutt DI, Mlodzik M. Dishevelled activates JNK and discriminates between JNK pathways in planar polarity and wingless signaling. *Cell*. 1998; 94(1):109-18.
9. Buchanan C, Lago Huvelle MA, Peters MG. Metastasis suppressors: basic and translational advances. *Curr Pharm Biotechnol*. 2011;12(11):1948-60.
10. Steeg PS. Metastasis suppressors alter the signal transduction of cancer cells. *Nature reviews Cancer*. 2003;3(1):55-63.

11. Peters MG, Farias E, Colombo L, Filmus J, Puricelli L, Bal de Kier Joffe E. Inhibition of invasion and metastasis by glypican-3 in a syngeneic breast cancer model. *Breast Cancer Res Treat.* 2003;80(2):221-32.
12. Castillo LF, Tascon R, Huvelle MA, Novack G, Llorens MC, Santos AF, et al. Glypican-3 induces a mesenchymal to epithelial transition in human breast cancer cells. *Oncotarget.* 2016 Aug 6.
13. Buchanan C, Stigliano I, Garay-Malpartida HM, Rodrigues Gomes L, Puricelli L, Sogayar MC, et al. Glypican-3 reexpression regulates apoptosis in murine adenocarcinoma mammary cells modulating PI3K/Akt and p38MAPK signaling pathways. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;119(3):559-74.
14. Weiner, GJ. Building better monoclonal antibody-based therapeutics. *NatRevCancer.* 2015 Jun;15(6):361-70.
15. Strohl, WR. Current progress in innovative engineered antibodies. *Protein Cell.* 2018 Jan;9 (1):86-120.
16. Scott AM, Wolchok JD, Old LJ. Antibody therapy of cancer. *Nat Rev Cancer.* 2012. Mar 22;12(4):278-8.
17. Sanjeev Kumar Gupta & Pratyosh Shukla. Microbial platform technology for recombinant antibody fragment production: A review. *Critical Reviews in Microbiology.*, 2016.
18. Arezumand R, Alibakhshi A, Ranjbari J, Ramazani A and Muyldermans S. Nanobodies As Novel Agents for Targeting Angiogenesis in Solid Cancers. 2017. *Front. Immunol.* 8:1746. 2017.
19. Krishnamurthy, A. & Jimeno, A., Bispecific antibodies for cancer therapy: A review, *Pharmacology and Therapeutics* 2018. 185:122-134.
20. Weiner LM, Murray JC, Shuptrine CW. Antibody-based immunotherapy of cancer. *Cell.* 2012 Mar 16;148(6):1081-4.
21. Fiszman GL, Jasnis MA. Molecular Mechanisms of Trastuzumab Resistance in HER2 Overexpressing Breast Cancer *Int J Breast Cancer.* 2011 2011:352182.
22. Rodríguez CE, Berardi DE, Abrigo M, Todaro LB, Bal de Kier Joffé ED, Fiszman GL. Breast cancer stem cells are involved in Trastuzumab resistance through the HER2 modulation in 3D culture. *J Cell Biochem.* 2018 Feb;119(2):1381-1391.