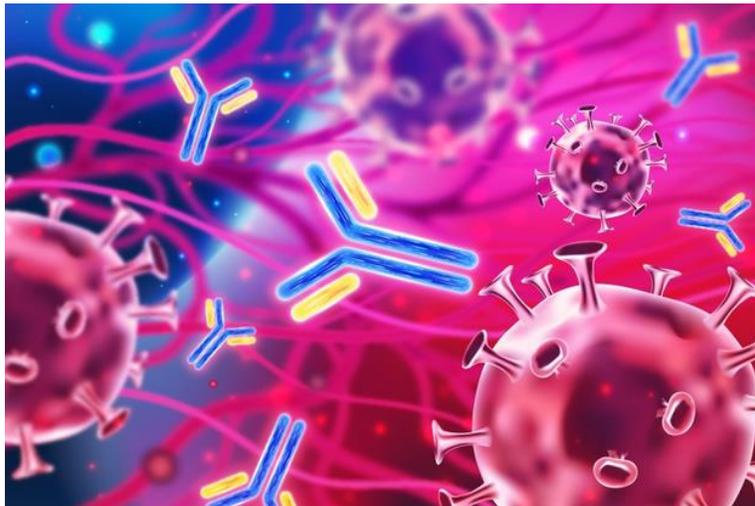


ANTICUERPOS MONOCLONALES: estructura, desarrollo y usos



DOCENTE/S:

Quintero, Cristian
Pelegrina, Laura

AUTORES:

Miras, Gonzalo
Moreno, Luciana
Sanchez, Fernanda

BIOTECNOLOGÍA

2022

Índice

Resumen	2
Introducción	3
Estructura de anticuerpo o inmunoglobulina	3
Desarrollo de anticuerpos monoclonales	4
Usos Terapéuticos	7
Conclusión	7
Bibliografía	8

Resumen

Los anticuerpos o inmunoglobulinas son un tipo de proteínas denominadas glicoproteínas. Funcionan como la parte específica del complejo receptor de células B, reconociendo al antígeno a nivel de la membrana del linfocito B y desencadenando una respuesta de varias células inmunes que lo atacan. Además, funcionan como moléculas circulantes secretadas por las células plasmáticas provenientes de la activación, la proliferación y la diferenciación de células B.

En la actualidad, la integración de las técnicas de biología molecular e ingeniería genética y proteica permitieron expandir el horizonte de la generación de anticuerpos monoclonales y sus usos, y se han encontrado técnicas como la hibridación, la quimerización, la humanización y la producción de anticuerpos monoclonales plenamente humanos. En el mercado se hallan alrededor de 29 anticuerpos monoclonales aprobados por la Food and Drug Administration (FDA) de USA para uso en humanos.

Los anticuerpos monoclonales se diseñan especialmente para actuar ante dianas específicas, con el propósito de interrumpir un proceso patológico concreto, excitar una acción celular definida o desviar un mecanismo celular hacia una vía de interés.

Palabras claves: anticuerpos monoclonales, medicina, producción

Introducción

La respuesta inmunológica específica se desarrolla cuando un organismo ha sido expuesto a uno o varios antígenos, originando una respuesta policlonal, es decir, la producción de anticuerpos contra un rango amplio de estructuras presentes en los antígenos. Sin embargo, desde el punto de vista clínico, los anticuerpos a menudo se unen únicamente a un objetivo específico, lo que limita su potencial terapéutico en enfermedades causadas por múltiples mediadores y mecanismos.

En las últimas décadas, los grandes avances de la Biotecnología y la Biología Molecular y el conocimiento de los procesos fisiopatológicos han permitido el desarrollo de gran cantidad de medicamentos biotecnológicos innovadores, incluyendo los anticuerpos monoclonales, destinados al tratamiento de enfermedades neoplásicas, autoinmunes, infecciosas, inflamatorias y cardiovasculares, entre otras. Estos medicamentos, tienen un enorme potencial en el tratamiento de estas enfermedades graves. En el momento actual los anticuerpos monoclonales se han establecido como el principal grupo de fármacos biotecnológicos ya que producen una respuesta monoclonal y se da por la selección de un solo clon activado de células B que produce un anticuerpo para un determinante antigénico único.

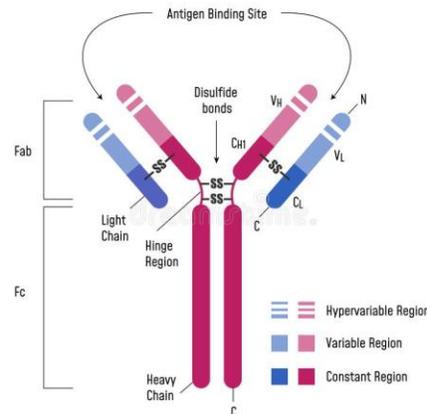
Estructura de anticuerpo o inmunoglobulina

Los anticuerpos, independientemente de su especificidad, tienen una estructura común, que se compone de cuatro cadenas polipeptídicas: dos cadenas pesadas idénticas, unidas covalentemente a un oligosacárido, y un par idéntico de cadenas livianas no glicosiladas. Un puente disulfuro y otras uniones no covalentes unen las cadenas pesadas con las livianas. Además, las cadenas pesadas están unidas entre sí por al menos un puente disulfuro, localizada en una región conocida como “bisagra”, formada por aproximadamente 12 residuos de aminoácidos. Esta proporciona una gran flexibilidad a la molécula.

Funcionalmente, los anticuerpos se dividen en una fracción que involucra el reconocimiento antigénico, denominada Fab, y una fracción cristalizable (Fc) que media funciones efectoras como la citotoxicidad celular que depende del anticuerpo

Se forman dos sitios idénticos de unión al antígeno, cada uno de los cuales contiene las regiones determinantes de complementariedad, que se encuentran constituidas por aproximadamente diez residuos de aminoácidos, las cuales interactúan directamente con un antígeno específico.

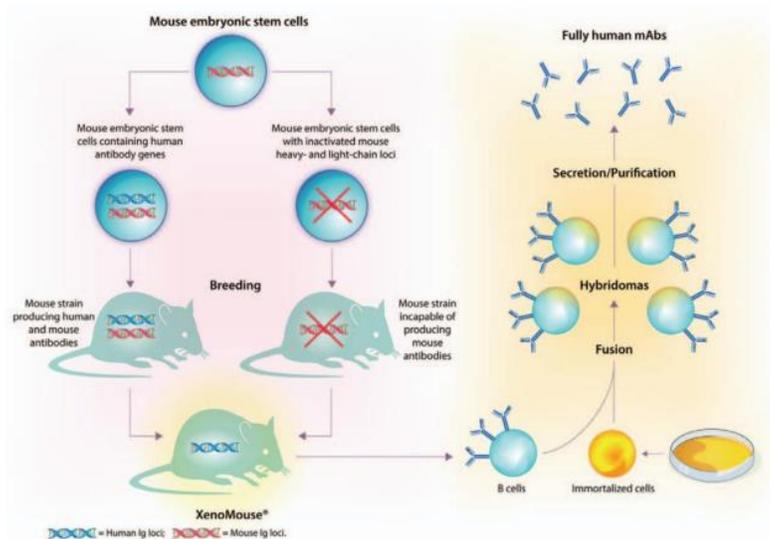
Aproximadamente, los primeros cien aminoácidos de la secuencia de cada cadena son distintos, de ahí el nombre de variable (V) para esta región, mientras que el resto de la cadena es idéntico en cada anticuerpo de una determinada clase (C).



Desarrollo de anticuerpos monoclonales

Se han desarrollado diferentes métodos para obtener anticuerpos monoclonales enteramente humanos, entre ellos el uso de ratones transgénicos.

La primera tecnología de hibridoma consiste en la fusión de una línea celular de mieloma de ratón que no produce una inmunoglobulina propia y linfocitos B productores de un anticuerpo específico de interés obteniendo una línea celular inmortal capaz de producir el anticuerpo monoclonal de interés, que puede recuperarse del medio. Fue necesario poner a punto esta tecnología porque el producto era inmunogénico y además los Ac de ratón en humanos tenían una farmacocinética deficiente.



Extraído de *Evolution and Emergence of Therapeutic Monoclonal Antibodies*.

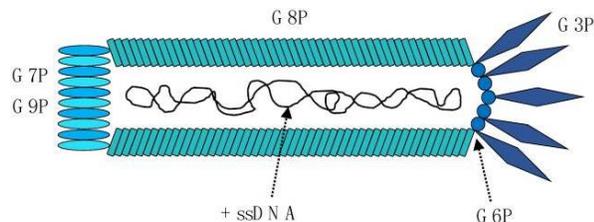
El primer paso del experimento consistió en la inmunización de un ratón con un antígeno, cuando comienza a producir anticuerpos contra el antígeno se le remueve el bazo, se separan las células y se cultivan *in-vitro*. Por otro lado, se dispone de un cultivo de células neoplásicas de un mieloma y se procede a fusionar ambos cultivos. El resultado es una célula de fusión (hibridoma), la cual tiene

la capacidad de producir grandes cantidades de un único anticuerpo, propia de los linfocitos B y la capacidad de multiplicarse indefinidamente, característica de las células neoplásicas.

Luego, se seleccionan los hibridomas capaces de producir los anticuerpos deseados y se produce la expansión del clon de mayor interés. Finalmente se procede a la purificación de los anticuerpos obtenidos. De esta manera se obtiene una fuente casi inagotable de anticuerpos producidos por un clon celular, que derivan de un único linfocito B, y que son por tanto idénticos y específicos de epítopos individuales. El primer anticuerpo monoclonal terapéutico producido mediante esta tecnología fue muromonab, de origen murino, dirigido frente al antígeno CD3 que se expresa en la superficie de los linfocitos T.

Otra tecnología que permite obtener anticuerpos monoclonales es Phage Display (presentación de proteínas en la superficie de fagos filamentosos), la cual no utiliza ratones. Los fagos o bacteriófagos son virus infectan bacterias, introduciendo su material genético en el genoma bacteriano. Su genoma puede estar compuesto de ADN o ARN, el cual puede ser de cadena doble o sencilla.

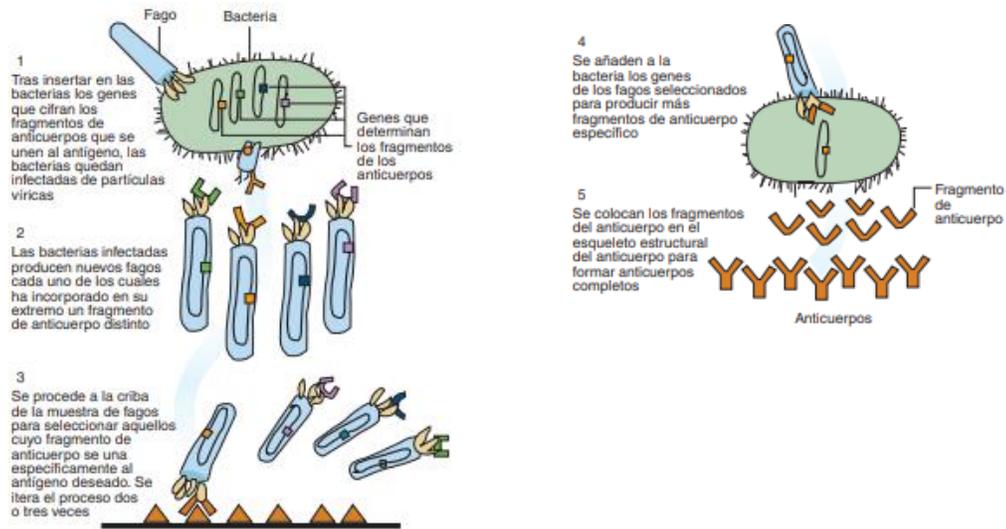
Para la producción de anticuerpos monoclonales se emplea el fago M13, un tipo de bacteriófago que infecta a *E. coli*, insertando su genoma y usando las funciones vitales de la bacteria para reproducirse y producir más copias virales. Mediante técnicas de ADN recombinante es posible manipular su material genético e insertar una secuencia externa de ADN. Estos fagos modificados genéticamente pueden expresar en su superficie diferentes proteínas terapéuticas.



Representación esquemática del bacteriófago M13. Extraído de *Basics of Antibody Phage Display Technology. Toxins*

Cuando uno de estos portadores de ADN codificante para un anticuerpo infecta una bacteria, se producen nuevos fagos que expresan en su superficie los anticuerpos de interés unidos a sus proteínas. Por tanto, son capaces de unirse al antígeno, para posteriormente ser seleccionados y empleados nuevamente para infectar bacterias, produciendo nuevos virus portadores de anticuerpos.

Para obtener una molécula que tenga la máxima afinidad por una diana primero se deben obtener todas las posibles combinaciones genéticas que produzcan dicha molécula. Cada una de estas secuencias se fusiona con el gen que codifica las proteínas de la cápside del fago, para lograr que sean expresadas en su superficie. De esta forma se obtienen clones de fagos que producen una variante diferente de la secuencia de la proteína que se desea obtener. Luego, se seleccionan aquellos fagos que expresan en su superficie la molécula con las mejores propiedades de unión a la molécula diana.

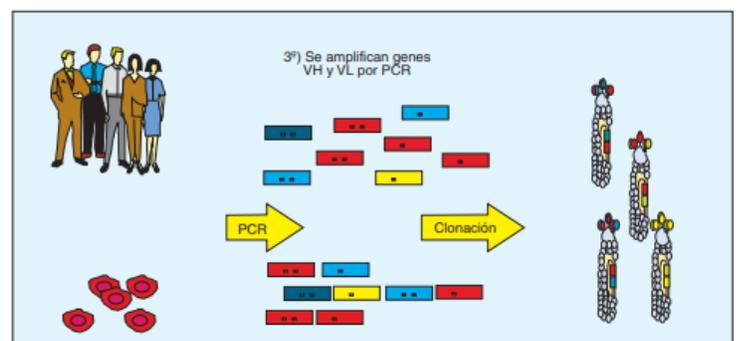


A continuación, se describe el procedimiento de obtención de anticuerpos monoclonales diseñados para bloquear la acción de una proteína diana en un proceso patológico concreto. El proceso comienza con el aislamiento de los genes que codifican las porciones variables de cadena ligera (VL) y cadena pesada (VH) a partir de linfocitos B aislados de donantes adultos sanos. Estos genes se amplifican mediante PCR, proceso que aumenta su número exponencialmente. Una vez que las secuencias de genes se aíslan y replican, se someten a un proceso de recombinación para lograr todas las combinaciones posibles, lo que requiere una gran cantidad de anticuerpos diferentes. El siguiente paso es clonar las combinaciones resultantes e insertarlas en el ADN del fago junto con los genes que codifican las proteínas estructurales de la cápside. La replicación de fagos en *E. coli* y los anticuerpos funcionales se expresan en sus cápsides, al igual que los linfocitos B expresan anticuerpos en su superficie. Derivado de múltiples bacteriófagos con anticuerpos apropiados en sus superficies, formando una biblioteca de anticuerpos.

Producción de anticuerpos monoclonales mediante el sistema de presentación en fagos. Extraído de *Adalimumab: la molécula y el proceso de obtención*.

Contienen secuencias de genes que codifican anticuerpos con la mayor afinidad y especificidad por la proteína diana respectiva.

Una vez que se elige la combinación VH/VL (de la porción Fab), se ensambla con la porción Fc del esqueleto estructural del anticuerpo. La secuencia génica resultante se introdujo en células de ovario de hámster chino (células CHO).



Obtención de la biblioteca humana de presentación de anticuerpos en fagos. Extraído de *Adalimumab: la molécula y el proceso de obtención*.

Usos Terapéuticos

En el mercado se conocen distintos tipos de medicamentos, los más importantes son: Amevive, Xanelim, Enbrel, Remicade, cuyos nombres genéricos son alefacept, efalizumab, etanercept e infliximab, respectivamente.

- Amevive[®] (nombre comercial en Canada) o Alefacept o anti-CD2 es una medicina bajo prescripción de la clase de antipsoriáticos sistémicos, anticuerpos monoclonales y son bloqueadores del TNF
- Xanelim[®] o efalizumab, anti-CD11a también son bloqueadores del factor de necrosis tumoral y son antipsoriáticos.
- Infliximab es un potente anticuerpo monoclonal quimérico humano derivado de ratón que se une con alta afinidad al TNF y posee una acción antiinflamatoria. Es utilizado en espondilitis anquilosante, enfermedad de Behcet, enfermedad inflamatoria intestinal y también en psoriasis.
- Etanercept se utiliza para disminuir el dolor y la inflamación y enlentecer la evolución de artritis reumatoide; también son bloqueadores del factor de necrosis tumoral.
- Omalizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado obtenido mediante la tecnología del ADN recombinante, a partir de una línea celular mamífera de ovario de hámster chino. Se utiliza para asma moderado-severo persistente.
- Rituximab es un anticuerpo monoclonal quimérico que se une de forma específica a la molécula CD20 humana. Se usa en el tratamiento de enfermedades hematológicas.

Podemos encontrar una gran variedad de medicamentos a base de anticuerpos monoclonales hoy en día que están aprobados: Trastuzumab, Alemtuzumab, Ibritumomab, Omalizumab, Cetuximab, Adalimumab

Conclusión

En el año 2005, la terapia con anticuerpos monoclonales representaba el área de crecimiento más grande de la industria farmacéutica y con el pasar de los años se ha demostrado el gran potencial que tiene en la medicina.

Con la suma de importantes técnicas como la biología molecular e ingeniería genética han permitido ampliar el campo de la generación de anticuerpos monoclonales y sus usos, y se han encontrado técnicas de hibridación, la quimerización, la humanización y la producción de anticuerpos monoclonales totalmente humanos.

Los anticuerpos monoclonales son imprescindibles en el ámbito clínico y biotecnológico, y han resultado ser útiles en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades infecciosas, inmunológicas y neoplásicas, así como también en el estudio de interacciones patógeno-hospedador.

Ante este rico muestrario de posibilidades, las grandes empresas y laboratorios farmacéuticos podrían aumentar sus líneas de producción, para poder anticiparse a un mercado prometedor tanto

para generar ganancias a gran escalas y permitir prevenir, tratar o curar distintas patologías que hoy en día no tienen rumbo certero.

Bibliografía

1. Foltz, I. N., Karow, M., & Wasserman, S. M. (2013). Evolution and emergence of therapeutic monoclonal antibodies: what cardiologists need to know. *Circulation*, 127(22), 2222–2230. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.002033>
2. Bermúdez Carvajal, K.; Hidalgo Carrillo, G.; Mora Mata, R.; Rodríguez Mora, K.; Ysmael-Acle Sánchez, B. & Mora Román, J.J. (2019). Anticuerpos monoclonales biespecíficos: desarrollo, producción y uso como terapia anticancerígena. <https://doi.org/10.15517/rmucre.v13i1.37573>
3. Ledsgaard, L., Kilstrup, M., Karatt-Vellatt, A., McCafferty, J., & Laustsen, A. H. (2018). Basics of Antibody Phage Display Technology. *Toxins*, 10(6), 236. <https://doi.org/10.3390/toxins10060236>
4. Shankar, V. & Vafai, A. (2015, 16 diciembre). Therapeutic Applications of Monoclonal Antibodies. National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7093874/>
5. MACHADO, N. P., TELLEZ, G. A. & CASTAÑO, J. C. (2006, 6 julio). Monoclonal antibodies: physical development and therapeutic perspectives. *Scientific Electronic Library Online*. <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v10n3/v10n3a06.pdf>