

Anticuerpos monoclonales

Eduardo Gonzales Dávalos *

Los anticuerpos monoclonales (AcMc) están asociados a innumerables acontecimientos, siendo los más importantes: su obtención, sus diferencias con los anticuerpos policlonales (AcPc), su producción a gran escala, por último, las perspectivas que ellos nos ofrecen en la moderna medicina y en la investigación.

¿Qué es un clon?

Es una agrupación (familia) de células, en la que todas las células que la componen son idénticas en cuanto a su estructura, características metabólicas, funciones, etc. Proviene de una célula parenteral madre a través de divisiones sucesivas, tanto de ellas como de sus células hijas.

¿Qué son los Anticuerpos Monoclonales?

Son inmunoglobulinas homogéneas secretadas por un sólo clon celular (células B y plasmáticas), en las que todas sus reacciones con un antígeno (Ag) definido son siempre las mismas.

¿Cómo se obtienen los Anticuerpos Monoclonales?

Fue en 1975 cuando George Köhler y César Milstein demostraron que la hibridación (fusión) de linfocitos inmunes de ratón con células de mieloma originaban células híbridas las cuales podían secretar inmunoglobulinas homogéneas de especificidad predefinida los (anticuerpos monoclonales).

La tecnología convencional de producción de

AcMc en animales, consta de una serie de etapas que van desde la selección del animal donante de linfocitos y su esquema de inmunización, hasta la adecuada conservación de los híbridos seleccionados. Estas etapas deben ser objeto de un cuidadoso análisis previo, el cual, garantice la obtención exitosa del AcMc deseado.

De forma general esta tecnología se encuentra basada en los siguientes aspectos:

- Los linfocitos inmunizados sintetizan su DNA por dos vías: endógena o del Novo y exógena o del Salvamento. Estas células de Bazo mueren en periodos cortos cuando se encuentran en cultivo.
- La línea de mieloma utilizada es hipoxantinguanidín-fosforribosil-transferasa negativas (HGPRT-) característica por la cual no sintetizan DNA por la vía exógena, realizándose únicamente la síntesis por la vía endógena. Estas células en cultivo se mantienen viables y se reproducen rápidamente.
- La unión de estas dos líneas celulares, se realiza a través de un agente fusionante; el polietilenglicol (PEG); facilitándose de esta manera, la formación de células híbridas. La adición de Aminopterina (un bloqueante de la vía endógena) a estas células, da lugar a la obtención de las células híbridas requeridas. Estos híbridos heredan del linfocito: 1) La capacidad de producir Ac a través de su vía exógena activa. 2) Del

* Docente Investigador, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas - UMSA.

mieloma heredan, la capacidad de crecer viables en medio de cultivo. Posteriormente, se realizan pruebas para detectar del Ac., de interés (Tamizaje), que en caso de resultar positivas, se procede a realizar el clonado; proceso que consiste en la obtención de una población celular derivada de una célula madre, de forma que todas las células hijas posean la misma información genética.

¿Qué diferencias existen entre Anticuerpos Policlonales y Monoclonales?

Como su nombre lo indica, los AcPc se encuentran conformados por una mezcla de varios Ac (reportado 10⁹ variedades de Ac). En la mayoría de los ensayos inmunológicos (reacción Ag-Ac), únicamente se requiere la reacción de un sólo tipo de Ac, en consecuencia en los sueros policlonales, los Ac restantes vendrían a resultar los interferentes de la reacción, debido principalmente a que disminuyen en gran manera la especificidad y la afinidad del Ac reaccionante. Los AcMc superan este problema, puesto que son totalmente específicos y presentan un alto grado de afinidad constituyéndose, de esta manera, en un reactivo ideal en toda una generación de pruebas ingeniosas.

Por otro lado, cuando la producción de AcPc cesa (el animal inmunizado muere); y se procede a una nueva inmunización, ésta precisa ser reestandarizada en todos los pasos que sean necesarios, a fin de obtener un suero policlonal que reúna características semejantes del producido anteriormente. Esto representa una gran desventaja frente a los AcMc, puesto que éstos se producen en cantidades ilimitadas a partir de un estandar.

¿Cuáles son las aplicaciones de los Anticuerpos monoclonales?

En la actualidad los AcMc presentan aplicaciones muy útiles en la Inmunología, Bioquímica, Histología, Biología Celular y otras especialidades.

- Definición de sub-poblaciones celulares.
- Tipificación de antígenos de tejido y grupo sanguíneo.
- Diagnóstico y tratamiento de enfermedades infecciosas y parasitarias.
- Detección de los niveles circulantes de hormonas y otros factores séricos.
- Demostración de daños tisulares.
- Detección de tóxicos, mutágenos y drogas.

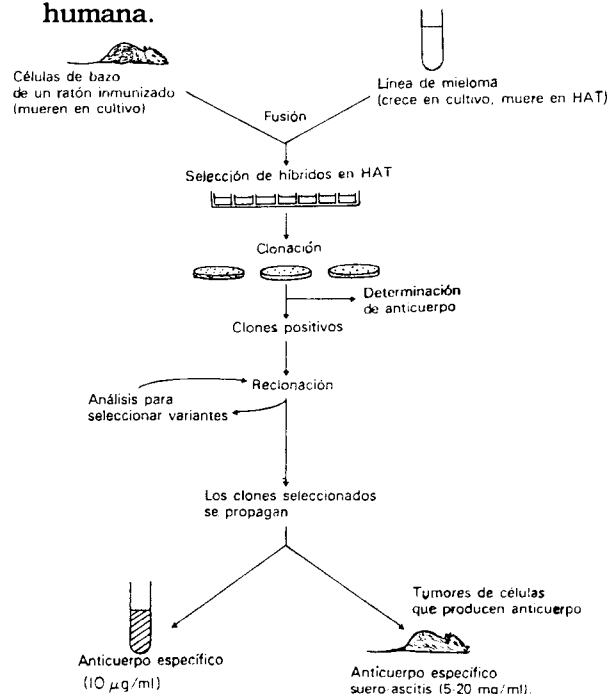
- Fabricación de antivenenos.
- Diagnóstico, seguimiento y tratamiento de tumores malignos.
- Facilitación de trasplante de órganos y tejidos.
- Purificación inmunoquímica de proteínas, hormonas, etc.

¿Cuáles son las perspectivas de los anticuerpos Monoclonales?

La aplicación de AcMc Murinos (fusión de linfocitos y mielomas de ratón), se ha visto limitada cuando éstos son administrados en los seres humanos de manera repetitiva, provocándose respuestas colaterales indeseadas. Es así que las investigaciones se han intensificado en la producción de AcMc Humanos con objeto de superar estos problemas y penetrar así, en el conocimiento de los mecanismos de la respuesta humoral humana, su relevancia en el caso del cáncer, en las enfermedades autoinmunes y en los procesos alérgicos.

No obstante, la tecnología de obtención de AcMc Humanos está menos desarrollada que para el caso de los AcMc Murinos, siendo el principal problema, la dificultad de obtener los linfocitos inmunes. En la actualidad, la producción de AcMc Humanos se viene realizando por las siguientes opciones:

- Procedimientos de inmunización y estimulación in vitro de linfocitos humanos, fusionados con una línea de mieloma humana.



- Con linfocitos humanos transformados con el virus Epstein-Barr (EBV) fusionados con una línea de mieloma humana.
- Con linfocitos B humanos fundidos con líneas de mieloma de ratón o rata (Heterohibridomas).

Otra alternativa para evitar los problemas asociados al uso terapéutico de los AcMc Murinos, son los Anticuerpos Quiméricos, los cuales se obtienen a base de manipulaciones genéticas. De forma general se construyen por el ensamblado de secuencia de genes, que codifican las regiones variables de las cadenas ligeras y pesadas de un Ac de ratón, con las regiones constantes de las cadenas de inmunoglobulina humana. Posteriormente, se procede a la transfección de esos genes a un determinado mieloma.

¿Cuáles son los sistemas de producción masiva de los anticuerpos Monoclonales?

Los sistemas de producción de AcMc se han catalogado de acuerdo a la cantidad de Ac que se obtienen, en pequeña, mediana y gran escala; estos sistemas pueden ser elaborados in vivo y in vitro respectivamente.

In vivo se produce a partir de ascitis tumoral de ratones o ratas, procedimiento por el cual se obtienen pequeñas cantidades (alrededor de 30 mg por ratón). Es lógico pensar que para un escalado hasta niveles de Kg., que son necesarios para estudios de tratamiento e imágenes de grandes grupos de pacientes afectados de cáncer, se consumirían decenas de miles de ratones, lo cual, elevaría los costos tanto económicos, como de trabajo.

Como una alternativa se tiene el cultivo celular in vitro, donde las células pueden mantenerse inmobilizadas o en suspensiones homogéneas, requiriéndose siempre una constante perfusión de medio frasco, el cual, permitirá la viabilidad de las células por tiempos prolongados. Para este fin, se han propuesto los siguientes métodos:

- Cultivo estacionario en botella "roller",
- Encapsulación en Alginato de Sodio,
- Perfusión en Fibras Huecas,
- Bioreactores a burbujeo,
- Bioreactores de agitación constante.

Los cuales han permitido obtener grandes cantidades de Ac en forma más económica y menos trabajosa, y que en la actualidad están siendo considerados.

BIBLIOGRAFIA

- Gavilondo Cowley J. (1988) Manual Teórico-Práctico sobre Tecnología de obtención y Producción de Anticuerpos Monoclonales Murinos. Div. de Hibridomas y Modelos Animales-Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. La Habana-Cuba.
- Milstein César (1991) Anticuerpos, Ciencia, Hoy Vol. 2 N° 11. Buenos Aires, Argentina.
- Ed Harlow-David Lane (1988) Antibodies. A Laboratory Manual, cold Spring harbor Laboratory. Printed in New York EE.UU.
- Sikora Karol - Howard m (1986). Anticuerpos Monoclonales. Editorial Reverté, Barcelona-España.
- Roitt L.- Brostoff J.- Male D. (1989). Inmunology. Copyright by Gower Medical. London-England.
- Orozco Oscar-Bravo M. y Colb. (1988). Manual de laboratorio - Aplicación de Anticuerpos Monoclonales en biología, Instituto Inmunología - Cancerología. Univ. Nacional. Bogotá - Colombia.
- Larrick J.W. - Gavilondo J. (1989) Anticuerpos Monoclonales Humanos. Interferon y Biotecnología Vol. 6 N° 2, 111-131.
- Olsson L.- Kaplan H. (1983) Huma-Human Monoclonal Antibody-Producing-Hybridomas Technical Aspects. Methods in Enzymology. Vol. 92.

ANTIGUA FARMACIA

"COLON"

EN EL 83 ANIVERSARIO DE SU FUNDACION

*Saluda a los Colegas Farmacéuticos
y Bioquímicos en ocasión del Día
del Farmacéutico PANAME-
RICANO.*

La Paz, 1º de diciembre de 1993

Mercado 1328 - Teléfono 353061
La Paz - Bolivia

La Astenia y el Stress

- en Geriatria
- en Medicina Interna
- en Neuro - Endocrinología



TON - WAS, tónico Psico-Físico



Distribuidor exclusivo para Bolivia
Laboratorios Alfa Ltda.

