
Anticuerpos monoclonales humanos

UNA ALTERNATIVA PARA TRATAR INFECCIONES POR BACTERIAS RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS

Dr. Juan Téllez Sosa, Dra. Hilda Minerva González Sánchez y Dr. Jesús Martínez Barnetche



En el 2014, la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó que la resistencia bacteriana a los antibióticos (ReBA) representa una de las mayores amenazas para la salud mundial, la seguridad alimentaria y el desarrollo. Sólo en los Estados Unidos, se calcula que las infecciones causadas por bacterias resistentes han elevado considerablemente el número de muertes y causado una carga económica anual estimada en más de 20 mil millones de dólares

Anualmente fallecen 700 mil personas debido al creciente número de patógenos bacterianos que han desarrollado resistencia a los antibióticos. Lamentablemente, en las últimas décadas se ha reducido el descubrimiento de antibióticos alternativos, de modo que la resistencia a los antibióticos actuales crece más rápido que la identificación de nuevos antibióticos.

En el 2014, la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó que la resistencia bacteriana a los antibióticos (ReBA) representa una de las mayores amenazas para la salud mundial, la seguridad alimentaria y el desarrollo. Sólo en los Estados Unidos, se calcula que las infecciones causadas por bacterias resistentes han elevado considerablemente el número de muertes y causado una carga económica anual estimada en más de 20 mil millones de dólares. La Alianza de la Industria contra la Resistencia Antimicrobiana estima que para el 2050, la ReBA provocará cerca de 10 millones de muertes anuales en el mundo,

con una pérdida de aproximada de 100 billones de dólares. Ante ello, la OMS lanzó en el 2015, "El Plan de Acción Mundial sobre la Resistencia a los Antimicrobianos", donde destaca la necesidad de desarrollar nuevos medicamentos y estrategias para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias resistentes, e implementar un Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ver *Biotechnología en Movimiento* números especiales 15 y 18 sobre Resistencia a antibióticos).

Males reemergentes

Las bacterias resistentes se conjuntan en tres grupos de prioridad: 1) Crítica: incluye a patógenos causantes de enfermedades como la tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) e infecciones gastrointestinales (e.g. *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*); 2) Alta: incluye a patógenos que causan neumonía e infecciones gastrointestinales (e.g. *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*); y 3) Media: incluye a patógenos causantes de neumonía y meningitis (e.g. *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*). En conjunto, estas bacterias son responsables de infecciones comunes graves y asociadas a una gran morbi-mortalidad hospitalaria, elevando dramáticamente los costos de atención médica.



Patógenos respiratorios humanos, bacterias que causan neumonía e infecciones gastrointestinales

¿Qué pasa en México?

El Diario Oficial de la Federación publicó en 2018 "La Estrategia Nacional de Acción Contra la Resistencia a los Antimicrobianos", que describe las acciones que se implementarán para disminuir la resistencia a los antimicrobianos (1). La Secretaría de Salud, a través de la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE), recopila información para la vigilancia, prevención y control de infecciones bacterianas nosocomiales. En su último informe reporta 61,969 casos de ReBA asociadas a la atención en salud, con una tasa de letalidad general de 16.1 por 100 casos. Las bacterias resistentes que destacan son *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* y *Pseudomonas aeruginosa* (2).

Los anticuerpos como medicinas

Los anticuerpos monoclonales (AcM) terapéuticos pertenecen al grupo de medicamentos biotecnológicos y representan un exitoso y creciente mercado dentro de la industria farmacéutica. Desde que la FDA (Food and Drug Administration en EU) aprobó en 1986 el primer AcM para el tratamiento del rechazo del trasplante de riñón, se han desarrollado numerosos anticuerpos que ofrecen nuevas oportunidades para el tratamiento de padecimientos de creciente incidencia en la población como: el cáncer, las enfermedades autoinmunes, inflamatorias, infecciosas y degenerativas. Debido a su alta especificidad y versatilidad como vehículos transportadores de fármacos, toxinas o radioisótopos, los AcM ejercen su acción terapéutica de forma altamente selectiva y se consideran medicamentos de bajo riesgo. Actualmente existen más de 60 AcM terapéuticos aprobados por las agencias reguladoras FDA y EMEA (European Medicines Agency) y existen cientos en evaluación clínica.

Figura 1. Los anticuerpos monoclonales reconocen un único epítipo (porción pequeña de la molécula) del antígeno, mientras que los anticuerpos policlonales reconocen múltiples epítipos.



Daniel Rivera

Desempolvando una idea brillante:

AcM contra enfermedades infecciosas

La eficacia de la inmunidad pasiva (mediada por transferencia de anticuerpos) contra la toxina diftérica fue demostrada en la era pre-antibiótica por von Behring (Premio Nobel 1901) y Kitasato. Su aplicación en el tratamiento de infecciones fue desplazada por los efectos adversos asociados a la transferencia de antisueros de caballo y por el advenimiento de la era de los antibióticos. El avance biotecnológico y el creciente desarrollo de ReBA está renovando el interés de los AcM para el tratamiento de enfermedades infecciosas, por ejemplo: el Palivizumab (Synagis) contra el virus sincicial respiratorio, responsable de causar gripe o neumonía en niños.

En el caso de infecciones bacterianas, el desarrollo de AcM antibacterianos se ha enfocado en la identificación de anticuerpos dirigidos contra endotoxinas o exotoxinas. En años recientes se han desarrollado AcM que al unirse a las endotoxinas activan mecanismos que conducen a la eliminación del patógeno reduciendo con ello tanto la infección, como la inflamación producida (Tabla 1). En otros casos, la infección es provocada por toxinas liberadas por las bacterias (exotoxinas) que se unen de manera específica a distintos blancos en las células infectadas. La presencia de concentraciones ínfimas de la exotoxina puede desencadenar respuestas pro-inflamatorias y con ello el inicio de la infección. Además, las exotoxinas al ser liberadas y diseminarse en el organismo, pueden mantenerse en los tejidos u órganos aún después de que el patógeno ha sido eliminado. AcM dirigidos contra varias exotoxinas están siendo valorados clínicamente (Tabla 1).

Actualmente, solo tres AcM antibacterianos han sido aprobados por la FDA para uso en humanos: 1) Raxibacumab es un anticuerpo que neutraliza la exotoxina de *Bacillus anthracis* y fue aprobado en 2012 para el tratamiento del carbunco por inhalación; 2) Obiltoxaximab es un anticuerpo que neutraliza la exotoxina de *B. anthracis* y fue aprobado en 2016 para el tratamiento del carbunco por inhalación en pacientes adultos y pediátricos; 3) Bezlotoxumab es un anticuerpo que neutraliza la exotoxina B de *Clostridium difficile* y fue aprobado en 2016 para reducir la recurrencia de la infección por *C. difficile* en pacientes adultos.

© lu.umtz

Patógeno	Endotoxina	Exotoxina	Patología	Medicamento	Naturaleza del AcM	Fase Clínica
<i>E. coli</i> STEC ¹		Toxina tipo Shiga 1 (Stx-1)	Diarrea y SUH ²	Protosaximab	IgG1 Quimérico	Fase II
		Toxina tipo Shiga 2 (Stx-2)	Diarrea y SUH	Setosaximab	IgG1 Quimérico	Fase III
		Toxina tipo Shiga 1 y 2	Bacteremia	Shigamab ³	IgG1 Humano	Fase II
<i>S. aureus</i>	CifA		Bacteremia	Tefibazumab	IgG1 Humano	Fase II
	Ácido lipoteicoico		Sepsis	Pagabaximab	IgG1 Quimérico	Fase III
		Toxina alfa	Neumonía	Tosatouxumab	IgG1 Humano	Fase II
		Toxina alfa	Neumonía	MEDI4893	IgG1 Humano	Fase II
		Toxina alfa y leucocidinas LPV	Neumonía	ASN100 ³	IgG1 Humano	Fase II
		Ácido teicoico	Neumonía	THIOMAB ⁴	IgG1 Humano	Fase I
		SpA	Neumonía	514G3	IgG1 Humano	Fase II
<i>P. aeruginosa</i>	LPS, antígeno O		Neumonía	Panabacumab	IgM Humano	Fase II
	PcrV (SSTT ⁵) Psi (polisacárido)		Neumonía	MED13902 ⁵	IgG1 Humano	Fase II
<i>C. difficile</i>		Toxina A	Colitis y diarrea	Actouxumab	IgG1 Humano	Fase III

Tabla 1. Anticuerpos monoclonales antibacterianos en desarrollo clínico

1. *E. coli* productora de toxinas tipo Shiga
2. Síndrome urémico hemolítico
3. Medicamento producto de la combinación de dos AcM
4. Anticuerpo conjugado con un antibiótico
5. Sistema de secreción tipo III,
6. Anticuerpo biespecífico



Tamizar cientos de millones de linfocitos B inmortalizados en cuanto a su especificidad por el antígeno de interés es un esfuerzo titánico, lo cual demanda una alta sofisticación tecnológica en metodologías que permiten la clasificación y conteo de células como la citometría de flujo, la microfluidica (estudio de fluidos en escala micro) y la biología celular y molecular

Identificar un anticuerpo con utilidad médica es como identificar una aguja en un pajar

En general, los mamíferos tenemos miles de millones de linfocitos B (células propias del sistema inmune), cada uno con la capacidad de producir un anticuerpo único, dirigido también contra una estructura única. La exposición a un antígeno (estructura reconocida por el anticuerpo) hace que el linfocito B prolifere y produzca enormes cantidades de anticuerpo, proceso conocido como selección clonal.

El problema es que idealmente, para usar anticuerpos como medicamentos humanos, estos deben ser de origen humano, e inmunizar humanos para generar medicinas no es ético. Hasta hace poco tiempo, los anticuerpos que se usan en humanos eran generados mediante inmunización en animales y sus genes tenían que ser modificados para no ser rechazados por el humano, proceso conocido como "humanización". Actualmente, la tendencia de la biotecnología de anticuerpos apunta hacia la generación de AcM humanos, evitando por completo este paso. Hacerlo implica el esfuerzo titánico de tamizar cientos de millones de linfocitos B inmortalizados en cuanto a su especificidad por el antígeno de interés, lo cual demanda una alta sofisticación tecnológica en metodologías que permiten la clasificación y conteo de células como la citometría de flujo, la microfluidica (estudio de fluidos en escala micro) y la biología celular y molecular.

Uno de los objetivos de nuestro grupo de investigación, es desarrollar AcM humanos con potencial terapéutico para tratar infecciones bacterianas resistentes a antibióticos. Para ello, hemos abordado la búsqueda de la aguja en un pajar de manera diferente, reproducir en cultivo el proceso de "selección clonal". Técnica que implica obtener millones de linfocitos B (provenientes de donadores de sangre sanos) para estimularlos *in vitro* con el antígeno de interés, en este caso antígenos de la membrana externa de la bacteria. Después de la estimulación, evaluamos el enriquecimiento de linfocitos B antígeno-específicos mediante técnicas inmunológicas y la secuenciación masiva de los genes que codifican las regiones variables del anticuerpo. Tal estrategia ha orientado la identificación de AcM específicos y con capacidad bacteriolítica contra bacterias resistentes como *E. cloacae* y *K. pneumoniae*.

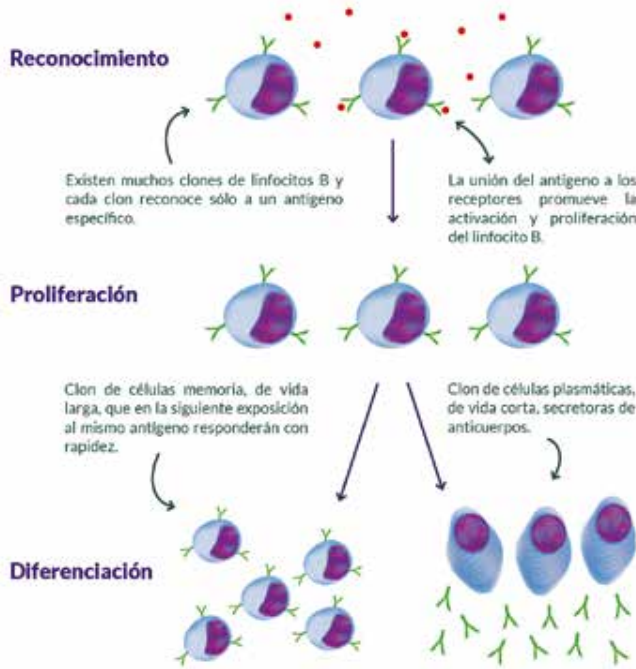


Teoría de la Selección Clonal

Cuando un antígeno penetra en el organismo se encuentra con muchos clones diferentes de linfocitos B, pero sólo se une y activa a aquel o aquellos clones que tienen los receptores específicos.

El antígeno selecciona y activa a los clones de linfocitos B que ya estaban destinados a responder frente a él.

- Linfocitos B
- Y Anticuerpos
- Moléculas de antígeno



Centros Germinales: evolución en días

Una importante propiedad de la respuesta inmune es mejorar la calidad de los anticuerpos ante exposiciones sucesivas con el mismo antígeno. La mejora en la calidad se denomina "maduración de la afinidad" y es mediada por el proceso denominado "hipermutación somática": una vez que un linfocito B reconoce un antígeno, además de proliferar generando una estructura llamada centro germinal (CG), entra en un proceso de mutación de sus genes de anticuerpo, lo cual genera un repertorio de anticuerpos con diferentes afinidades por el antígeno que lo seleccionó. Después de mutar, las células B son seleccionadas por afinidad. En caso de haber adquirido una mayor afinidad por el antígeno, las células proliferan, generando una mayor cantidad de células B con capacidad de reaccionar con el antígeno. Posteriormente, estas células pasan nuevamente por el proceso de mutación en rondas repetitivas de mutación y selección. Si la afinidad de la célula disminuye, ésta es inducida a morir. Producto final de los CG es un subtipo de células B conocidas como "células B de memoria", las cuales pueden permanecer en nuestro organismo por períodos de tiempo prolongados con el objetivo de protegernos ante una infección posterior con el mismo patógeno. En consecuencia, los CG son fundamentales para defendernos contra los patógenos, así como para lograr una vacunación eficaz.

Otra meta de nuestro grupo de investigación es reproducir fielmente la reacción del CG humano *in vitro*, de tal manera que el modelo nos ayude a entender mejor su biología, y por otro lado como fuente de AcM de alta afinidad contra bacterias resistentes. Nuestro esfuerzo se centra en idear las mejores condiciones *in vitro* para promover la expansión selectiva de células B específicas mediante el uso de nanomateriales acoplados al antígeno, que además entreguen a la célula antígeno-específica, factores con actividad anti-apoptótica (con el propósito de evitar la muerte que la célula tendrá en un momento determinado, o muerte celular programada). La reproducción de CG humanos antígeno-específicos permitirá un avance importante en la comprensión de las células B necesaria para el desarrollo de nuevas y mejores vacunas; y representará una opción tecnológicamente accesible en nuestro medio para la identificación de nuevos AcM humanos con potencial terapéutico.

Contacto: jmbarnet@insp.mx

Los autores realizan su trabajo de investigación en el Centro de Investigación sobre Enfermedades Infecciosas del Instituto Nacional de Salud Pública. La Dra. Hilda González Sánchez es Catedrática del CONACyT.

Referencias:

1. Diario Oficial de la Federación. Estrategia Nacional de Acción Contra la Resistencia a los Antimicrobianos. 2018. Disponible en: <https://www.gob.mx/senasica/documentos/resistencia-a-los-antimicrobianos?state=published>
2. Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica. Informe Anual 2015. Disponible en: <https://www.gob.mx/salud/documentos/informes-rhove-2015>