

Curso de Medicina Interna de la Sociedad de Medicina Interna de Buenos Aires Farmacología: Anticuerpos monoclonales

Prof. RA Diez

Dpto de Toxicología y Farmacología,
Facultad de Medicina, UBA, 30-08-2022

Conflicto de intereses: RAD es médico, actualmente profesor consulto titular de farmacología. Hasta diciembre de 2021, profesor titular de farmacología y gerente de investigación clínica de una compañía argentina de biotecnología.

El descubrimiento

Nature **256**, 495 - 497 (07 August **1975**); doi:10.1038/256495a0

Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity

G. KÖHLER & C. MILSTEIN

MRC Laboratory of Molecular Biology, Hills Road, Cambridge CB2 2QH, UK

THE manufacture of predefined specific antibodies by means of permanent tissue culture cell lines is of general interest. There are at present a considerable number of permanent cultures of myeloma cells^{1,2} and screening procedures have been used to reveal antibody activity in some of them. This, however, is not a satisfactory source of monoclonal antibodies of predefined specificity. We describe here the derivation of a number of tissue culture cell lines which secrete anti-sheep red blood cell (SRBC) antibodies. The cell lines are made by fusion of a mouse myeloma and mouse spleen cells from an immunised donor. To understand the expression and interactions of the Ig chains from the parental lines, fusion experiments between two known mouse myeloma lines were carried out.

Recomendación



Esta película argentina (de 2010) relata en formato documental (a través de entrevistas a César Milstein y a personas de su entorno) no sólo el descubrimiento y sus circunstancias (ilustrativas de parte de la historia científica argentina), sino también lo que Milstein percibía, ya en los inicios, como desarrollos y peligros posibles de su descubrimiento.

Hacer un monoclonal NO es caro...

biocompare.com/26097-Monoclonal-Antibody-Production-Services/

Monoclonal Antibody Production Services

Listed below are services for the custom development, discovery, and production of monoclonal antibodies. Monoclonal antibodies are distinct from polyclonals in that they are produced from one clonal population of antibody-producing cells. Traditionally, these cells have been hybridomas, created by the fusion of an antigen-specific plasma B cell with an immortalized myeloma cell. More recently, recombinant technology has also been used for the production of antibody fragments from non-hybridoma host cells, such as bacteria or cell lines. These cell culture-based methods enable monoclonal antibodies can be produced with consistent quality and at a larger scale.

Products (94) [Write a Review](#)

Your search returned 94 Monoclonal Services Antibody Production Monoclonal Antibody Production Services across [Company View](#) [Product View](#)

Sponsored Products

Biomatik

Custom Peptide Monoclonal Antibody Production Service (ELISA Guaranteed) [Supplier Page](#)

Description: Start at as low as \$3,900, Biomatik guarantees ELISA >1:80,000 (OD=1) on the produced monoclonal antibody. You receive 2-5 clones, along with 2mg antibodies each from two clones. Biomatik has been proudly serving 10,000+ scientists since 2002. To ... [Read More](#)

[Compare Product](#)

[View All \(5\)](#)

Sino Biological, Inc.

Anti-idiotype antibody development service [Supplier Page](#)

Description: Sino Biological has an optimized hybridoma technology for production of mouse

[Get Quote](#) [Compare](#)

Stay up to date on news and special offers related to these products. Free subscription!

Tomado de <https://www.biocompare.com/26097-Monoclonal-Antibody-Production-Services/> acceso 22-10-2019

Entre los primeros usos, se usaron como reactivos de investigación

Reinherz EL, Kung PC, Goldstein G, Schlossman SF. Separation of functional subsets of human T cells by a monoclonal antibody. Proc Natl Acad Sci U S A. **1979** Aug;76(8):4061-5.

A monoclonal antibody was produced to human peripheral blood T cells. This hybridoma antibody, termed OKT4, was reactive by indirect immunofluorescence with only 55-60% of the peripheral blood T cell population (OKT4+) and unreactive with normal B cells, null cells, and macrophages. The OKT4- T cell population contained the previously described TH2+ subset that has been shown to contain cytotoxic/suppressor cells. With cell-sorter separation of OKT4+ and OKT4- cells, it was shown that these T cell subsets were functionally discrete. Both gave proliferative responses with concanavalin A, alloantigens, and phytohemagglutinin although OKT4+ cells were much more responsive to the latter. OKT4+ cells alone responded to soluble antigens whereas OKT4- cells alone were cytotoxic after alloantigenic sensitization of unfractionated T cells. However, both OKT4+ and OKT4- cells were required during sensitization for optimal development of cytotoxicity. These data suggest that the OKT4+ subset represents a helper population and that the OKT4- subset contains the cytotoxic effector population. OKT4 could be a valuable reagent for determining alterations of these functional subsets in human diseases.

Fue el descubrimiento del CD4, con enorme impacto en inmunología

Los comienzos de su uso terapéutico

BLOOD

*The Journal of
The American Society of Hematology*

VOL. 59, NO. 1

JANUARY 1982

REVIEW

Utilization of Monoclonal Antibodies in the Treatment of Leukemia and Lymphoma

By Jerome Ritz and Stuart F. Schlossman

¿Qué decían/predecían?

The generation of murine monoclonal antibodies reactive with human leukemia and lymphoma cells has recently led to clinical trials that have begun to evaluate the use of these reagents in the treatment of various leukemias and lymphomas. Several of these studies have demonstrated that infusion of monoclonal antibody can cause the rapid and specific clearance of leukemic cells from the peripheral blood. Intravenously administered antibody also rapidly binds to bone marrow lymphoblasts, and in one instance, has resulted in the partial regression of tumor cell infiltrates in lymph nodes and skin. Unfortunately, clinically significant responses have not in general been achieved, but these clinical studies have identified specific factors that result in the development of resistance to antibody-mediated lysis in vivo. These factors include the

presence of circulating antigen, antigenic modulation, reactivity of monoclonal antibody with normal cells, immune response to murine antibody, and the inefficiency of natural immune effector mechanisms. Current research is now being directed towards developing methods to circumvent each of these obstacles. Future clinical studies utilizing antibodies in vitro or with different specificity may demonstrate greater therapeutic efficacy. In addition, monoclonal antibodies can be used as carriers of other cytotoxic agents and in conjunction with other agents that will reduce the total tumor load. Monoclonal antibodies represent new and powerful reagents that may in the near future become an additional therapeutic modality for patients with malignant disease.

Ya aparecían varias posibilidades

FUTURE DIRECTIONS

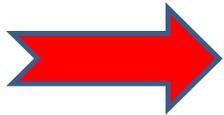
Development of New Monoclonal Antibodies

Some of the problems noted in previous studies may be resolved through the generation of new monoclonal antibodies with different specificity and of different immunoglobulin isotype. For example, antibodies that

.....

effective in animal models of serotherapy. Lastly, the problems associated with the administration of foreign proteins can be resolved through the development of human monoclonal antibodies and the technology necessary to make these reagents is now available.^{85,86}

.....



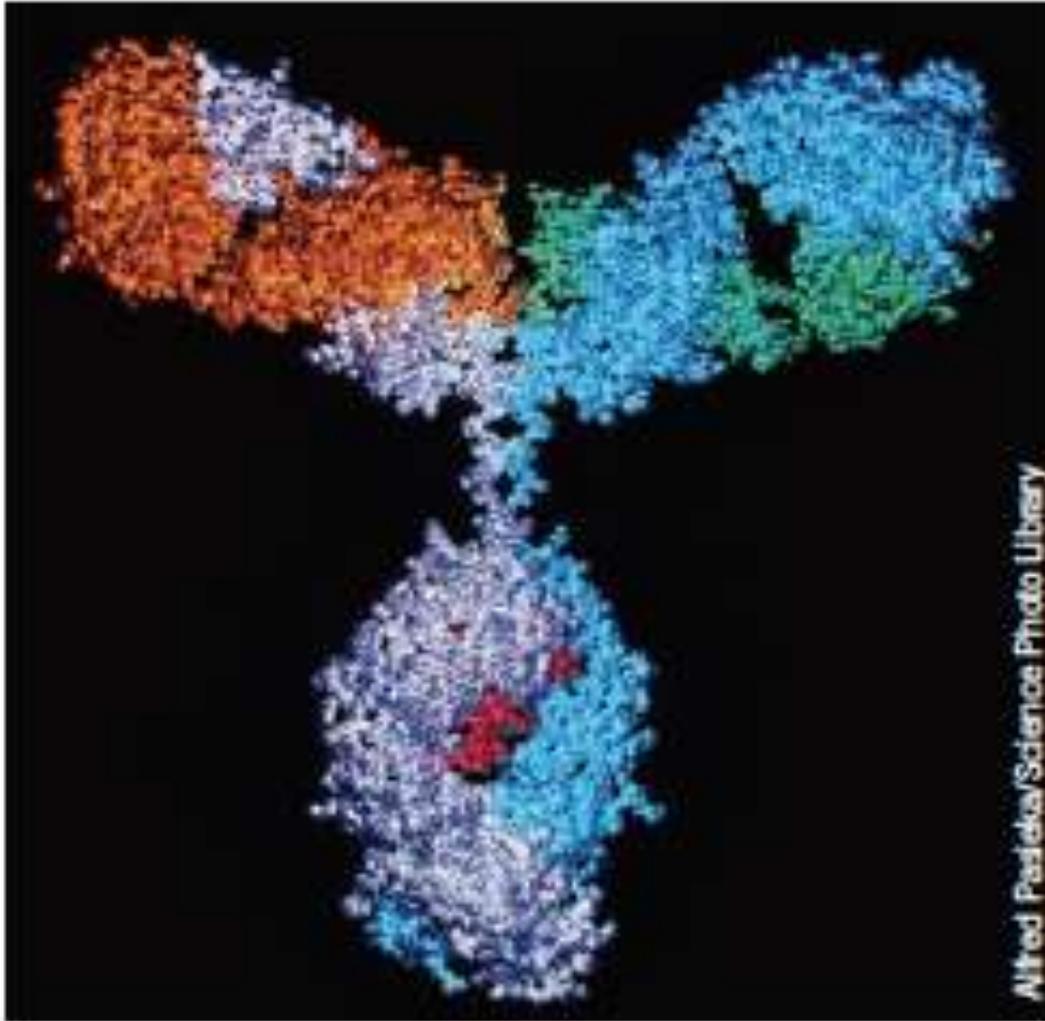
In Vitro Utilization of Monoclonal Antibodies

Many of the obstacles limiting the use of monoclonal antibodies in vivo may be circumvented through the carefully controlled use of these reagents in vitro. In a manipulated environment, blocking factors can be removed, modulation can be inhibited, human complement can be replaced by more active rabbit complement, the total number of tumor cells can be controlled, and repeated treatments can be utilized. All of these manipulations can potentially increase the efficacy of monoclonal antibody treatment.

Studies applying these concepts with conventional heteroantisera have previously been reported,^{87,88} and more recently, a trial using monoclonal antibody in vitro has been initiated within the context of autologous bone marrow transplantation. In this study, patients with relapsed CALLA-positive ALL but without HLA-identical bone marrow donors are transplanted with autologous bone marrow following ablative chemotherapy and total body irradiation. Prior to transplantation, bone marrow is treated in vitro with J5 antibody and rabbit complement to lyse CALLA-positive leukemic cells. Although it is too early to

Nótese que se trata de 1982....

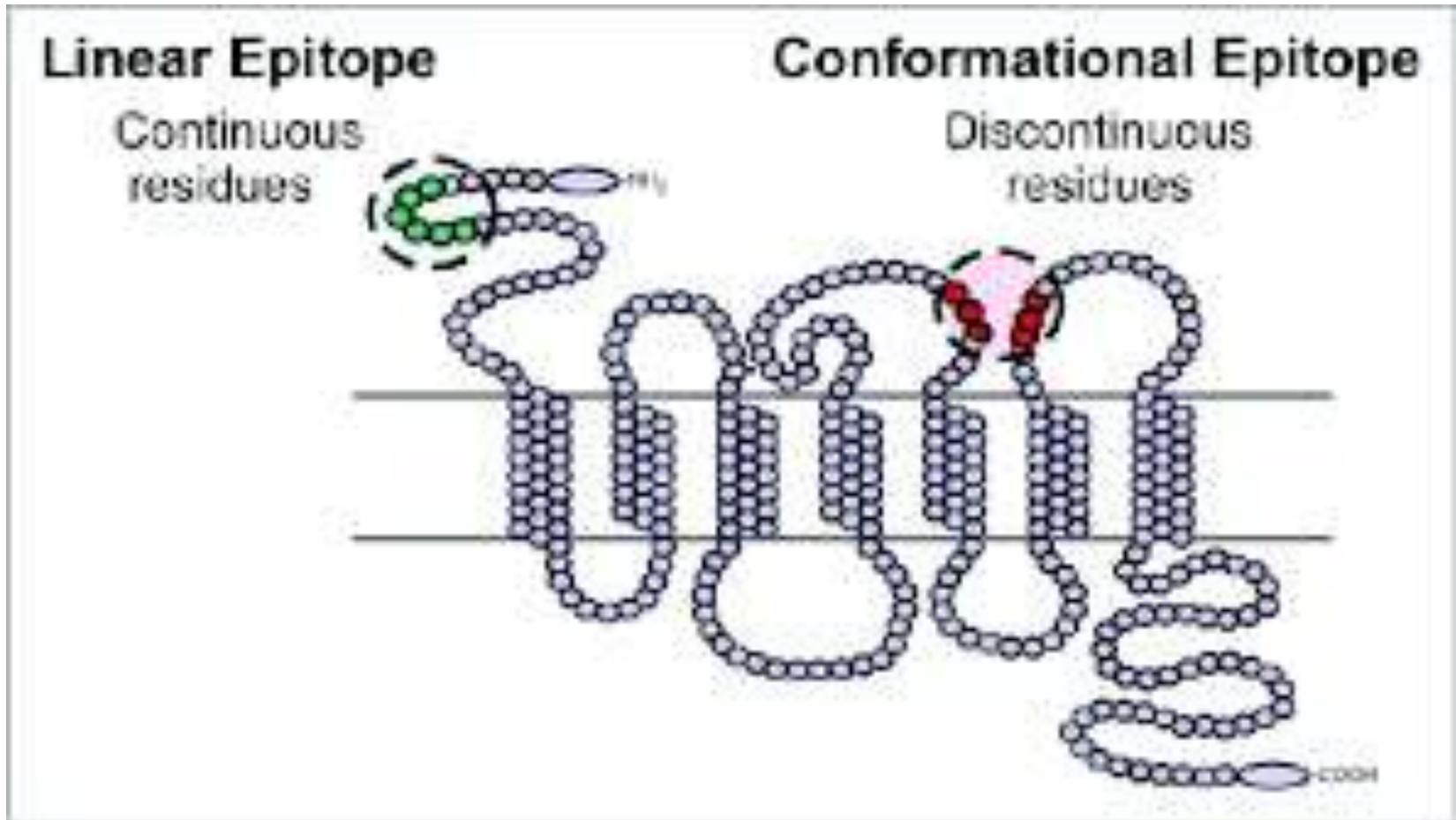
¿Qué son los mabs? Inmunoglobulinas



Las Igs son moléculas complejas, de gran tamaño, con múltiples funciones y mecanismos regulatorios.

Para analizar los anticuerpos monoclonales es prudente recordar algunas de esas características. La principal es que cada uno reconoce un antígeno particular.

¿Qué tipos de antígenos?

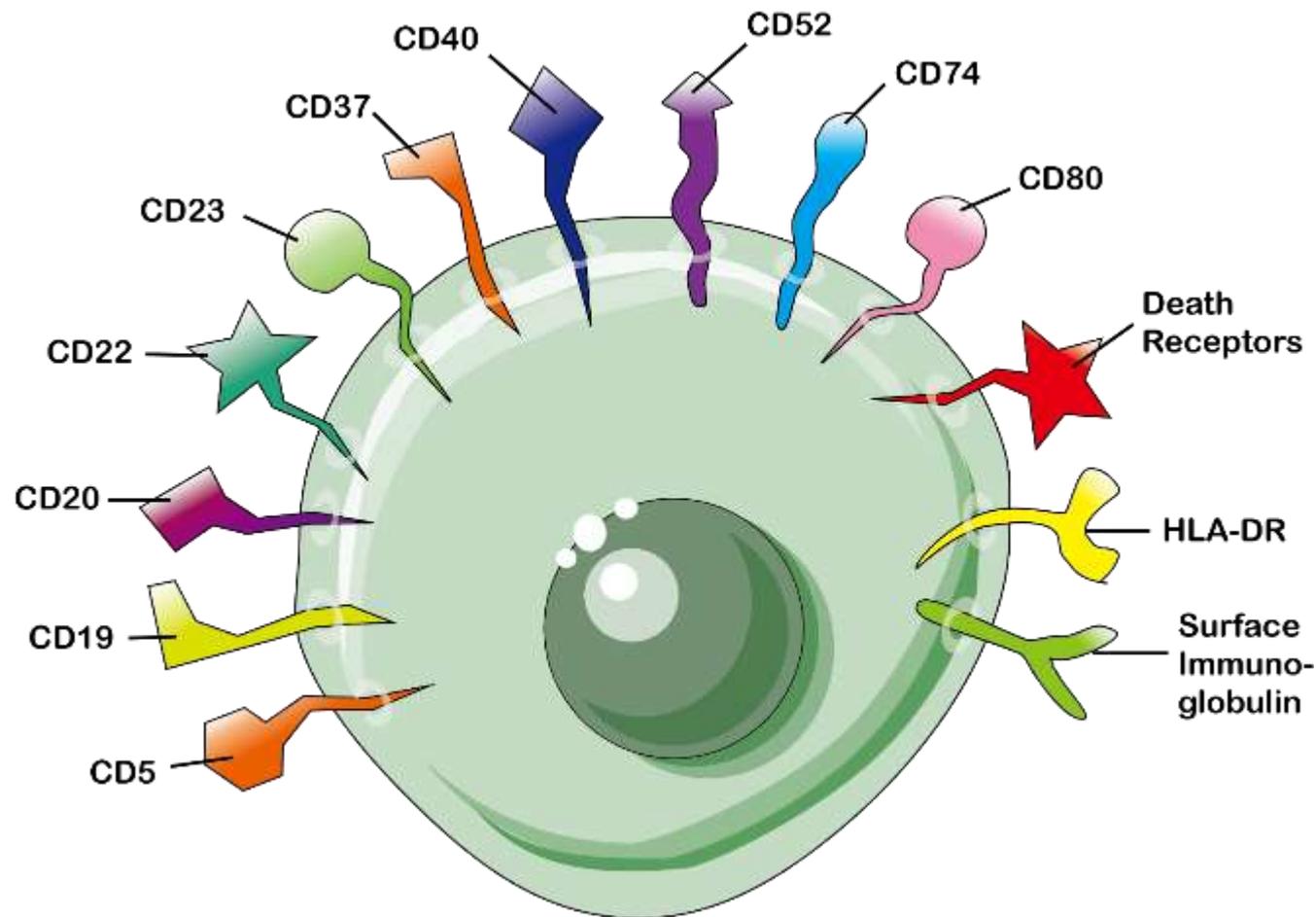


En el caso de las inmunoglobulinas, se estima que la mayoría de los epitopos reconocidos son conformacionales.

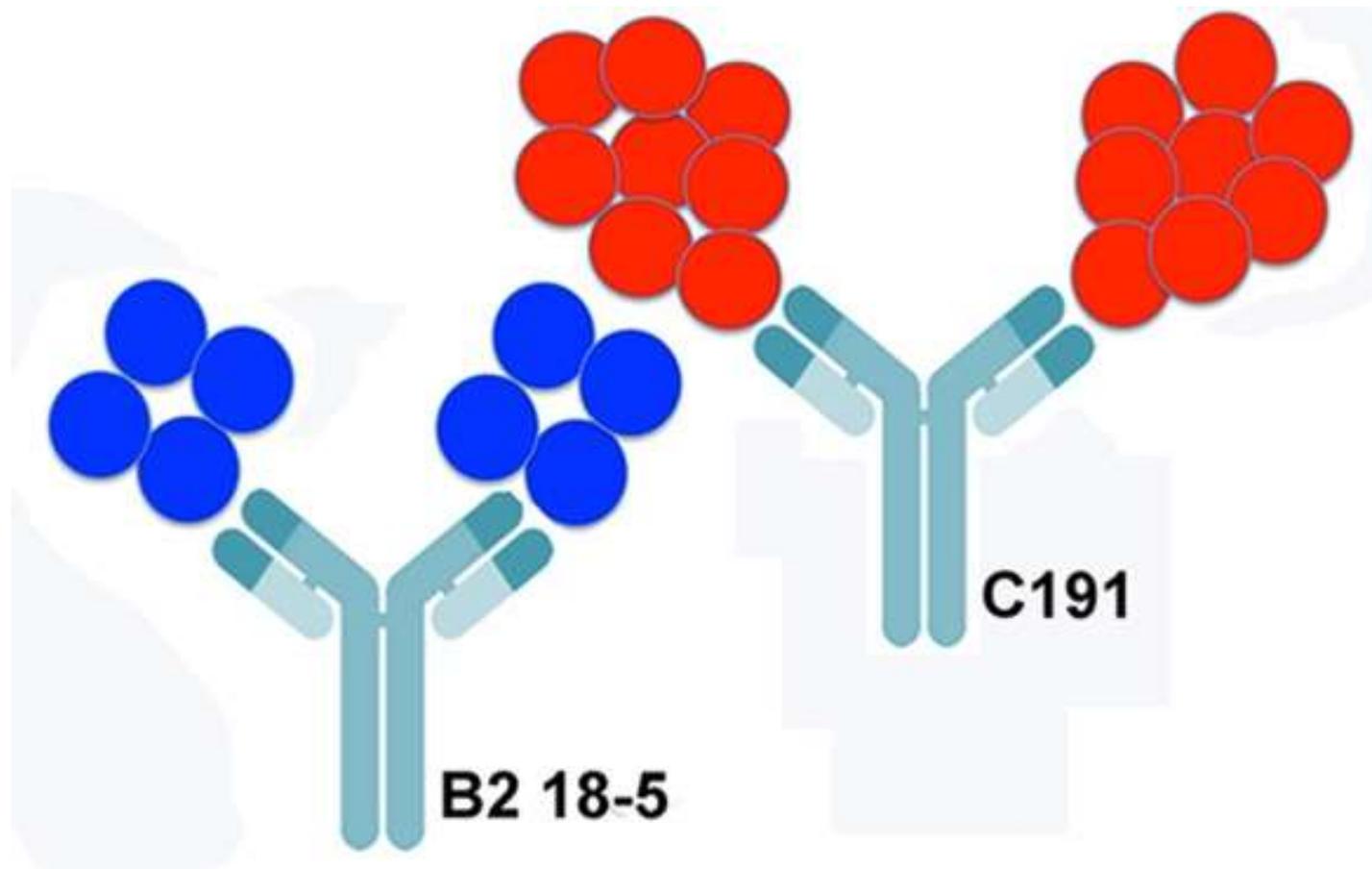
Los CD son un modelo interesante

- CD es la abreviatura de Cluster of Differentiation.
- Se refiere a un único antígeno de diferenciación leucocitaria reconocido por un conjunto de anticuerpos monoclonales procedentes de diferentes laboratorios.
- Es decir, es el nombre operativo que se pone a una misma proteína que puede ser reconocida por distintos anticuerpos, que pueden identificar en ella un mismo epitopo o no.

Hay muchas moléculas que se adaptan a ese concepto



Distintas conformaciones de una misma proteína pueden ser reconocidas por diferentes mabs



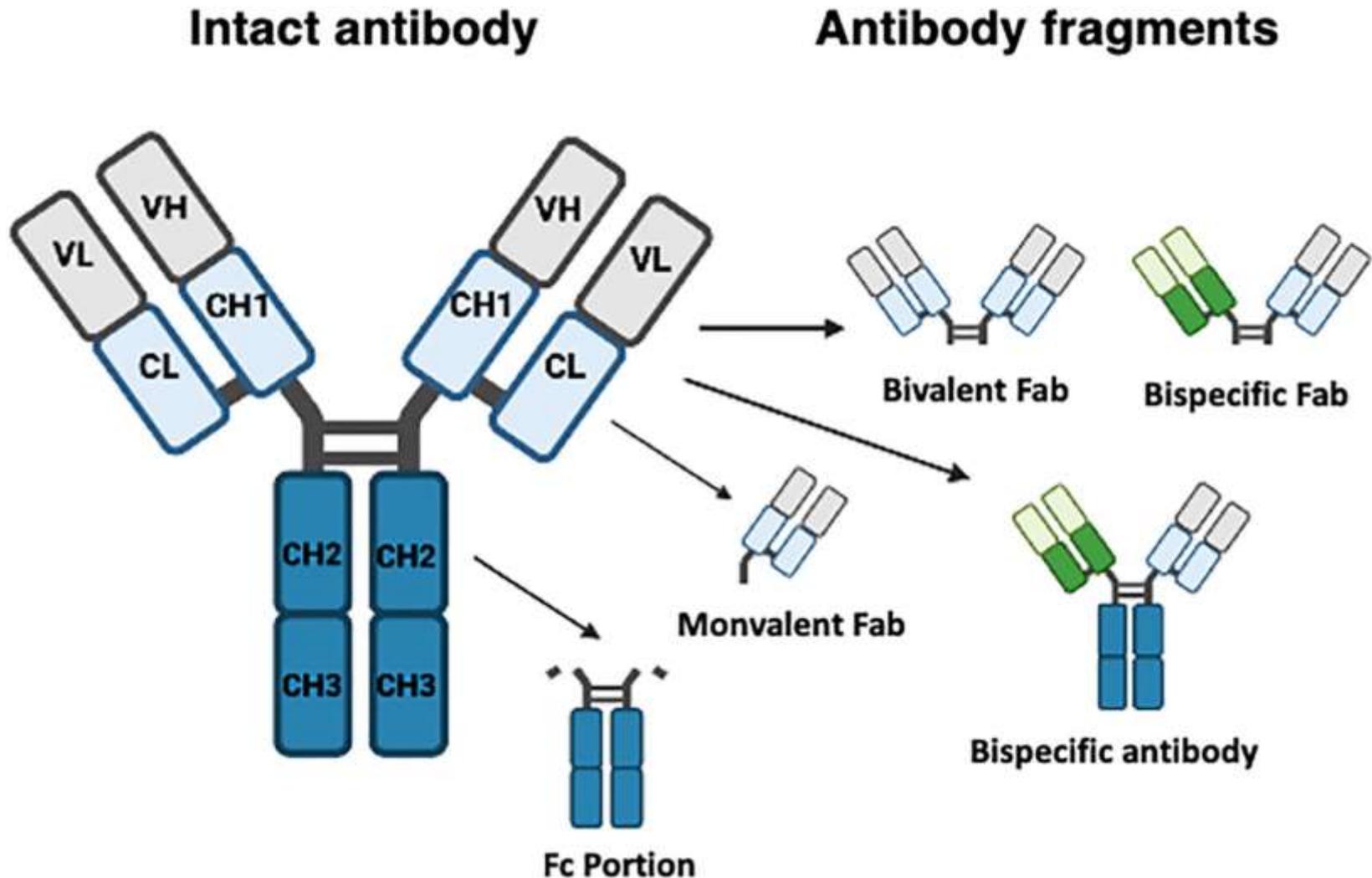
Peng *et al.*, ACS Omega. 2016; 1:1182-1191

Se puede predecir su estructura (y modelarla)

Marcatili et al., Antibody modeling using the prediction of immunoglobulin structure (PIGS) web server. Nat Protoc. **2014**; 9:2771-2783.

Antibodies (or immunoglobulins) are crucial for defending organisms from pathogens, but they are also key players in many medical, diagnostic and biotechnological applications. **The ability to predict their structure and the specific residues involved in antigen recognition has several useful applications in all of these areas.** Over the years, we have developed or collaborated in developing a strategy that enables researchers to predict the 3D structure of antibodies with a very satisfactory accuracy. The strategy is completely automated and extremely fast, requiring only a few minutes (~10 min on average) to build a structural model of an antibody. It is based on the concept of canonical structures of antibody loops and on our understanding of the way light and heavy chains pack together.

Eso permite armar anticuerpos “modificados”



James *et al.*, Front Physiol. 2022 Jan 14;12:753833.

Ese tipo de estudios y sus derivaciones fueron posibles a partir del desarrollo de anticuerpos monoclonales

¿Qué muestra la figura?

- Los anticuerpos monoclonales (a la izquierda) están compuestos por cuatro cadenas polipeptídicas, dos ligeras (L) y dos pesadas (H), cada una de ellas con un fragmento Fab y una región Fc (azul) unidas por una sección de bisagra para crear una estructura en forma de Y. El fragmento Fab que reconoce el antígeno está compuesto por dominios constantes (C) y variables (V) que constituyen el sitio de unión al antígeno.
- También se muestran (a la derecha) fragmentos específicos. Los Fab pueden ser bivalentes o monovalentes, y los anticuerpos biespecíficos manipulados pueden contener o no una porción Fc.

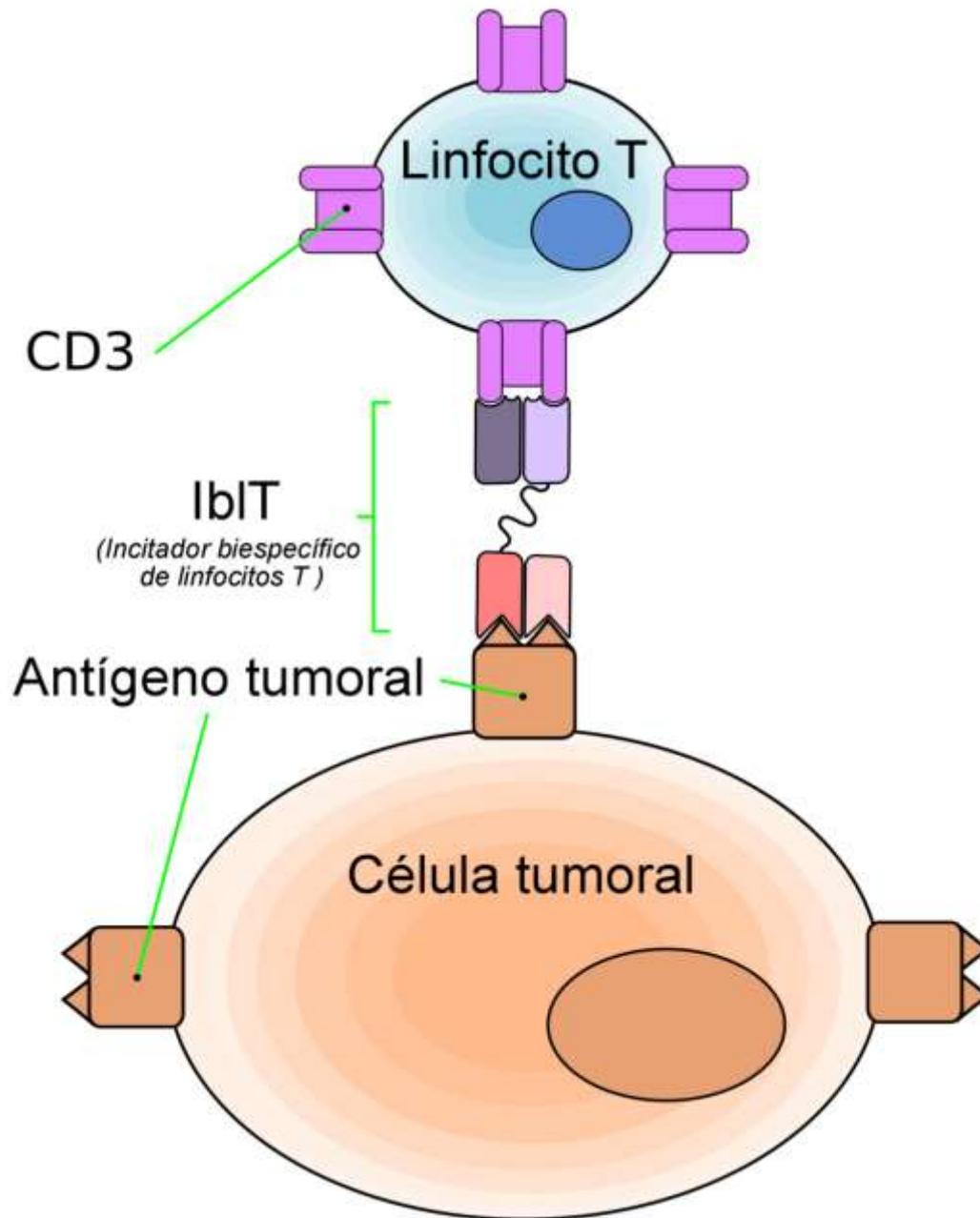
Nanocuerpos (nanoanticuerpos)

- También llamados anticuerpos de dominio simple o anticuerpos VHH debido a que consisten únicamente en dos copias de un dominio variable (VHH) de la cadena pesada de un anticuerpo. Normalmente son producidos por camélidos (como llamas y alpacas), en los que son alrededor del 50% de los anticuerpos.
- Son péptidos de unos 110 aminoácidos. Los dominios VHH poseen cuatro regiones marco (FR) y tres regiones hipervariables (HV) o regiones determinantes de la complementariedad CDR.
- Los CDRs o HV son las regiones que intervienen en la unión al antígeno, ya que entran en contacto con la superficie de éste. Poseen una alta variabilidad.
- Por ahora en desarrollo, de modo que no volveremos a ellos.

Anticuerpos bi-específicos

- Los monoclonales biespecíficos se han diseñado para mejorar la orientación (aumentar la eficacia de las interacciones entre células diana e inmunes o receptor-ligando) y la penetración tisular.
- Existen dos formatos:
 - anticuerpos biespecíficos basados en fragmentos (BsAb) carecen de una región Fc pero contienen dos dominios de unión a antígeno independientes. Como no hay una región Fc presente, son considerablemente más pequeños que los mAbs tradicionales, lo que les permite penetrar fácilmente en los tejidos.
 - los anticuerpos asimétricos similares a IgG de longitud completa, que retienen una porción Fc funcional.

Blinatumomab es un mab biespecífico



Aprobado por la FDA en 2017, reconoce CD3 en los LT y CD19 en los blastos de LLA.

Tomado de <https://www.cancer.gov/espanol/noticias/temas-y-relatos-blog/2017/blinatumomab-leucemia> acceso 05-02-2022

Características de Igs

- Glicoproteínas de elevado peso molecular (\Rightarrow parenteral)
- Distintas clases y subclases, en todos los casos compuestas por cadenas pesadas y livianas
- Vida media prolongada (usualmente 3 a 4 semanas para la IgG)
- Distribución limitada por su tamaño, con captación en numerosos tipos celulares por endocitosis mediada por receptor (incluyendo el mecanismo de pasaje por ejemplo a través de placenta).
- Numerosas funciones...

Algunas funciones

- Unión al antígeno que reconocen (por el Fab), lo cual puede resultar meramente en su fijación, o su cambio conformacional, eventualmente bloqueo/inactivación, directa o por impedimento estérico.
- Muchas mediadas por el Fc:
 - Activación de complemento,
 - Interacción con FcR (opsonización, transporte, activación u otras formas de regulación celular, etc.),
 - Catálisis,
 - Probablemente otras

Catálisis?

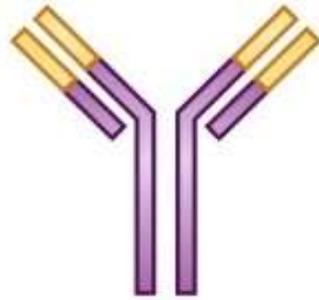
Wentworth et al., Evidence for antibody-catalyzed ozone formation in bacterial killing and inflammation. **Science. 2002;** 298:2195-9.

Recently, we showed that antibodies catalyze the generation of hydrogen peroxide (H_2O_2) from singlet molecular oxygen ($^1O_2^*$) and water. Here, we show that this process can lead to efficient killing of bacteria, regardless of the antigen specificity of the antibody. H_2O_2 production by antibodies alone was found to be not sufficient for bacterial killing. **Our studies suggested that the antibody-catalyzed water-oxidation pathway produced an additional molecular species with a chemical signature similar to that of ozone. This species is also generated during the oxidative burst of activated human neutrophils and during inflammation.** These observations suggest that alternative pathways may exist for biological killing of bacteria that are mediated by potent oxidants previously unknown to biology.

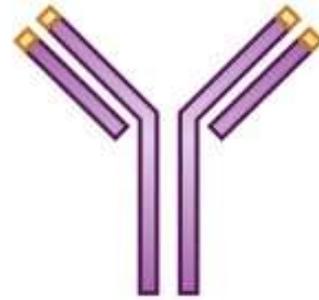
Nomenclatura de mabs



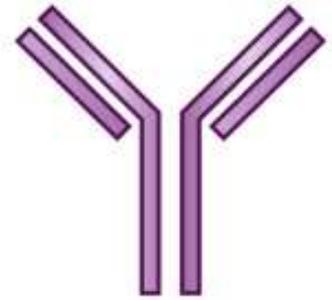
Mouse
(-momab)
100% murine



Chimera
(-ximab)
75% human
25% murine



Humanized
(-zumab)
95% human
5% murine



Human
(-umab)
100% human

Ojo! El primer mab empleado como inmunosupresor fue el muromonab (L04AA02, anterior a la fijación de esta nomenclatura).
Tomado de Wiseman, Clin J Am Soc Nephrol. 2016; 11:332-343

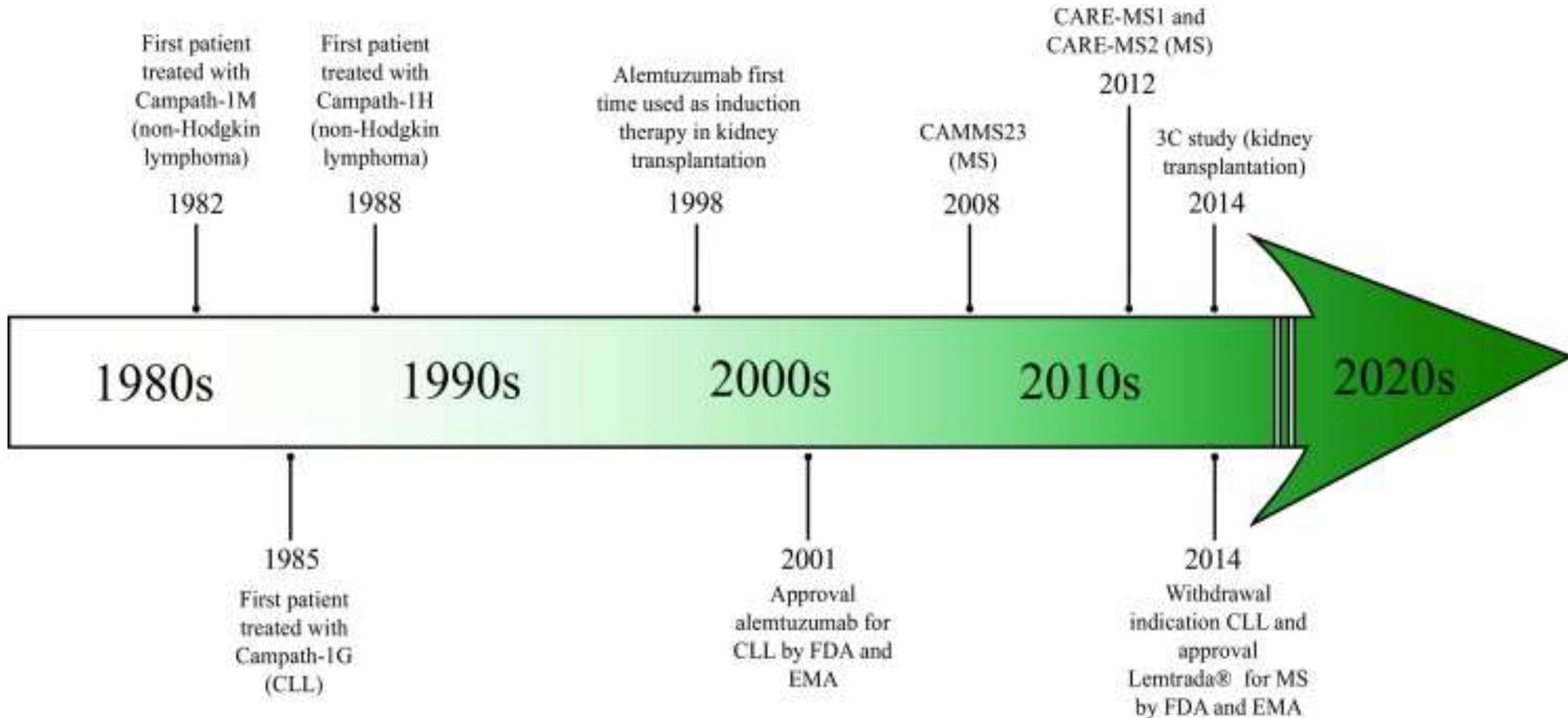
ANTICUERPOS MONOCLONALES EN USO TERAPÉUTICO (ejemplos)

- Muromonab (anti-CD3)
- Abciximab (anti-gpIIb/IIIa)
- Basiliximab y daclizumab (anti-CD25)
- Infliximab y adalimumab (anti-TNF- α , el 2º 100% humano)
- Canakinumab (interleukina-1 β)
- Natalizumab (anti- α 4 integrina)
- Palivizumab (anti-SRV)
- Rituximab (anti-CD20, linfomas y artritis reumatoidea)
- Trastuzumab (anti-HER-2), cetuximab (anti-EGFR)
- Omalizumab (anti-IgE, en CHO, asma)
- Efalizumab (anti-CD11a, psoriasis)
- Bevacizumab (anti-VEGF, cáncer de colon)
- Nivolumab, pembrolizumab (anti-PD-1, varios cánceres)
- Alirocumab y evolocumab (para Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9, en hipercolesterolemia familiar resistente a estatinas + ezetimiba)
- Otros...

Ac. monoclonales

- Como muestra la lista previa, salvo su condición de inmunoglobulinas, poco tienen en común.
- Dado que la mayoría son IgG, tienen vidas medias de 2 a 4 semanas, lo que, de requerirse tratamiento prolongado (no siempre hace falta), implica una o dos dosis por mes.
Modificable...
- Muchos cruzan placenta (Fc γ R, que evita degradación intracelular).
- Alto precio!!!

Alemtuzumab como ejemplo



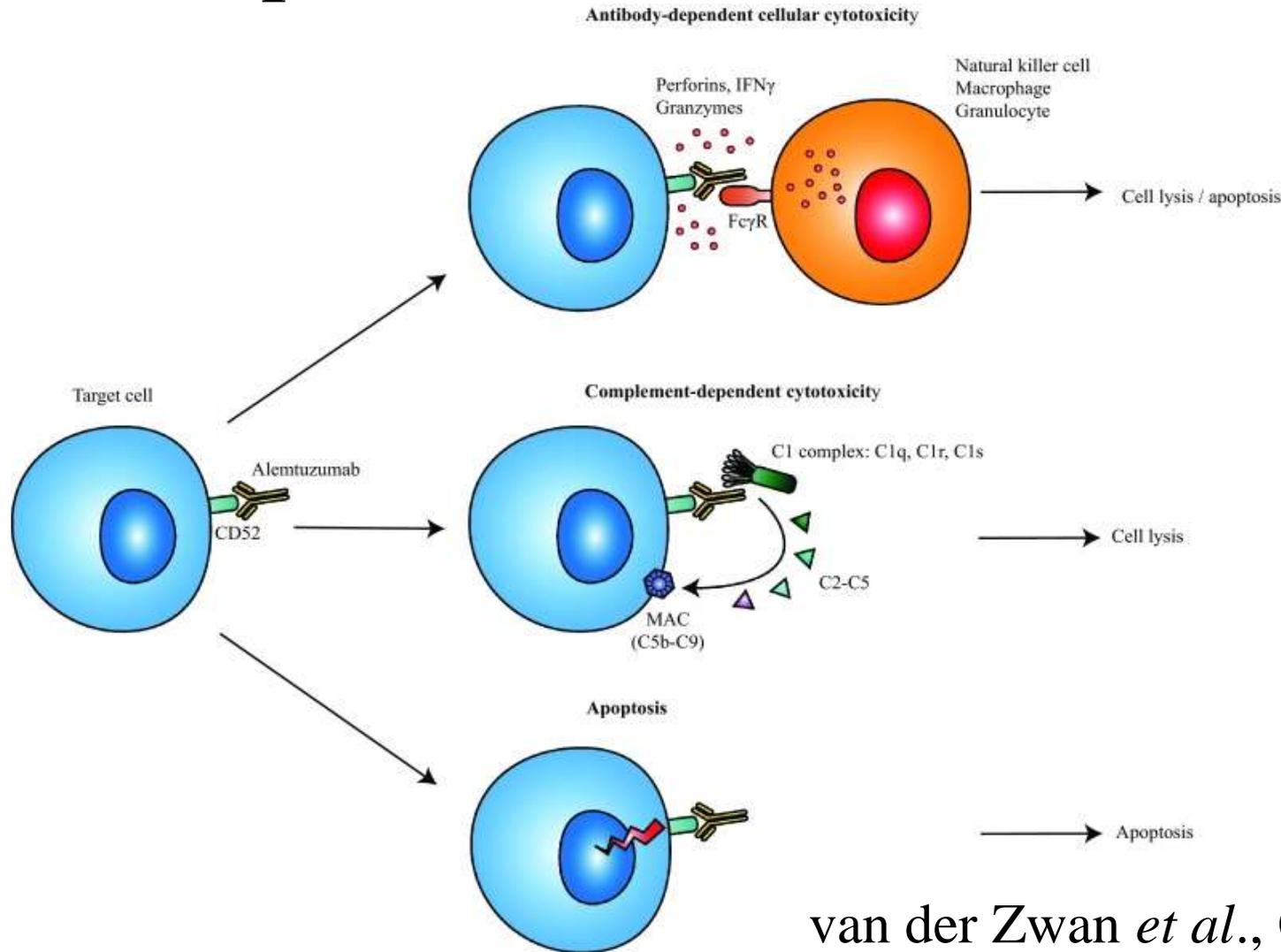
van der Zwan *et al.*, Review of the Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Alemtuzumab and Its Use in Kidney Transplantation. *Clin Pharmacokinet.* 2018; 57:191-207.

Alemtuzumab

- Empezó como IgM de rata
- En casi 40 años cambió bastante, incluyendo indicación, de Campath® a Lemtrada®.
- Apunta al CD52, una glicoproteína unida a la membrana por ancla de glicosil-fosfatidil-inositol, en linfocitos, monocitos y su progenie y neutrófilos.
- Su función no es clara (probablemente coestimulación).
- La relación dosis-respuesta no ha sido estudiada en algunas de las indicaciones.

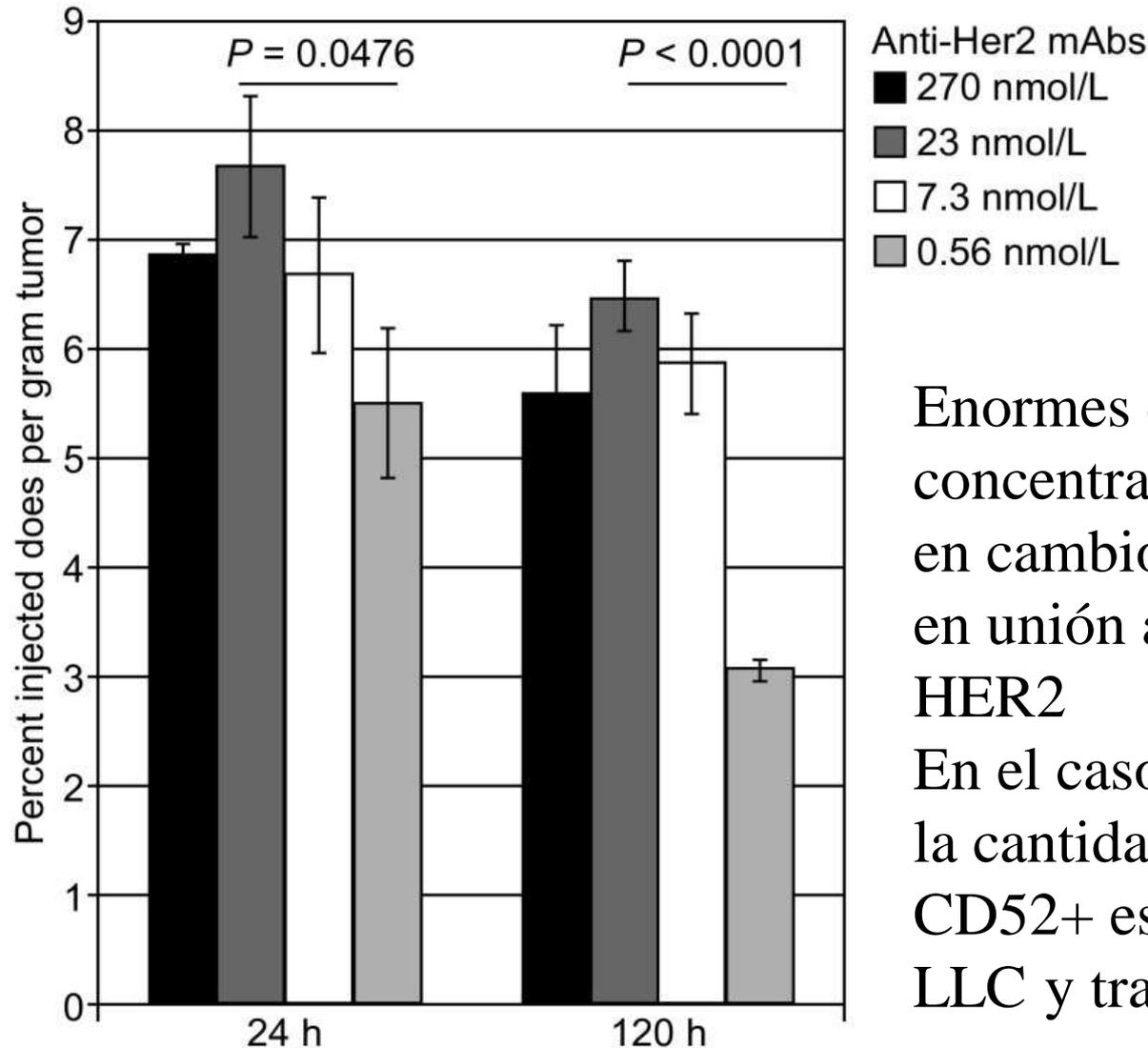
¿Qué hace el alemtuzumab?

Depleciona T, B, monocitos, etc.



van der Zwan *et al.*, Clin Pharmacokinet. 2018; 57:191-207.

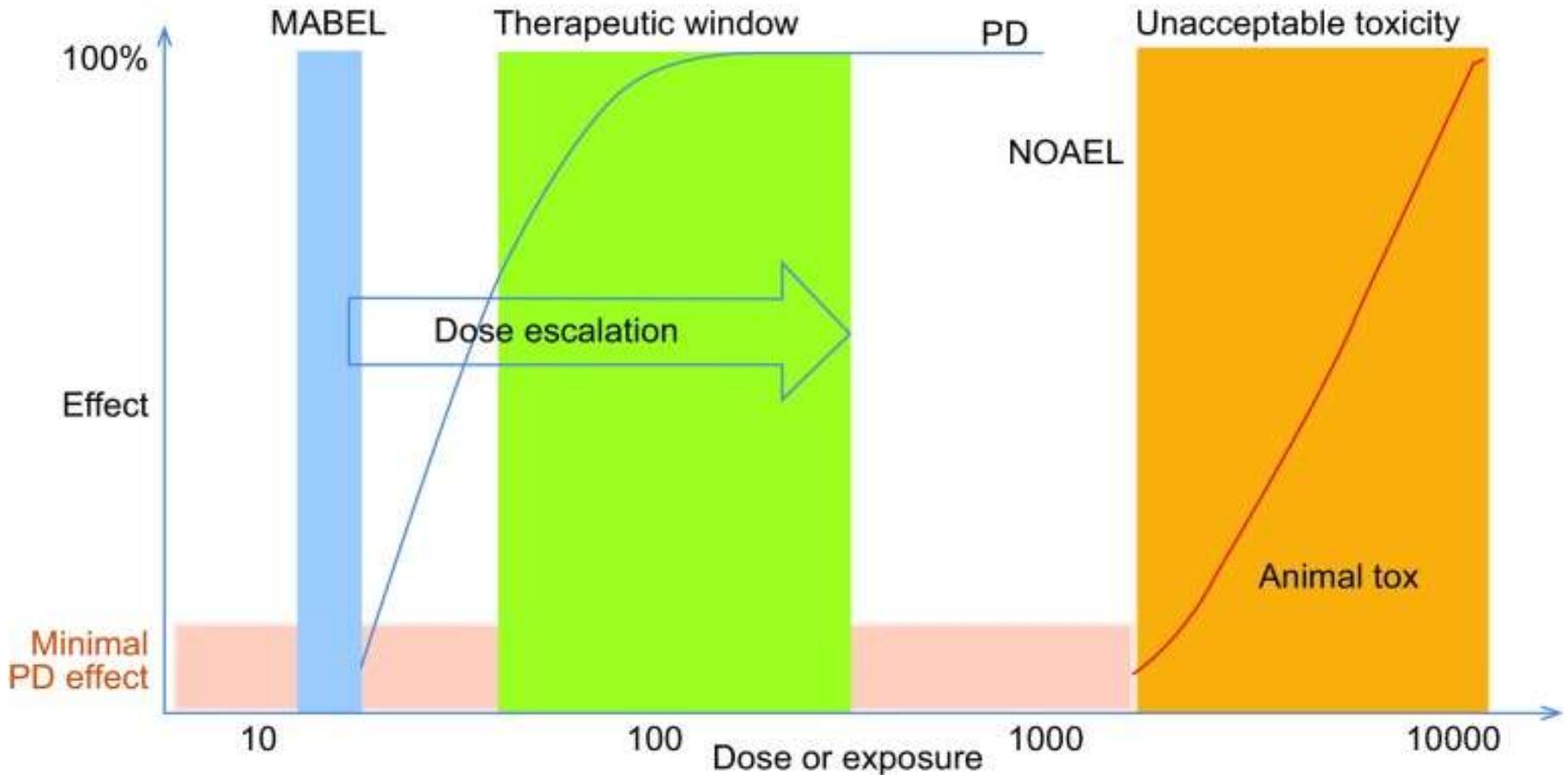
La relación dosis-respuesta de mabs tiene proporcionalidad compleja



Enormes diferencias de concentración no resultan en cambios proporcionales en unión al tumor de anti-HER2

En el caso del alemtuzumab la cantidad de células CD52+ es muy diferente en LLC y transplante.

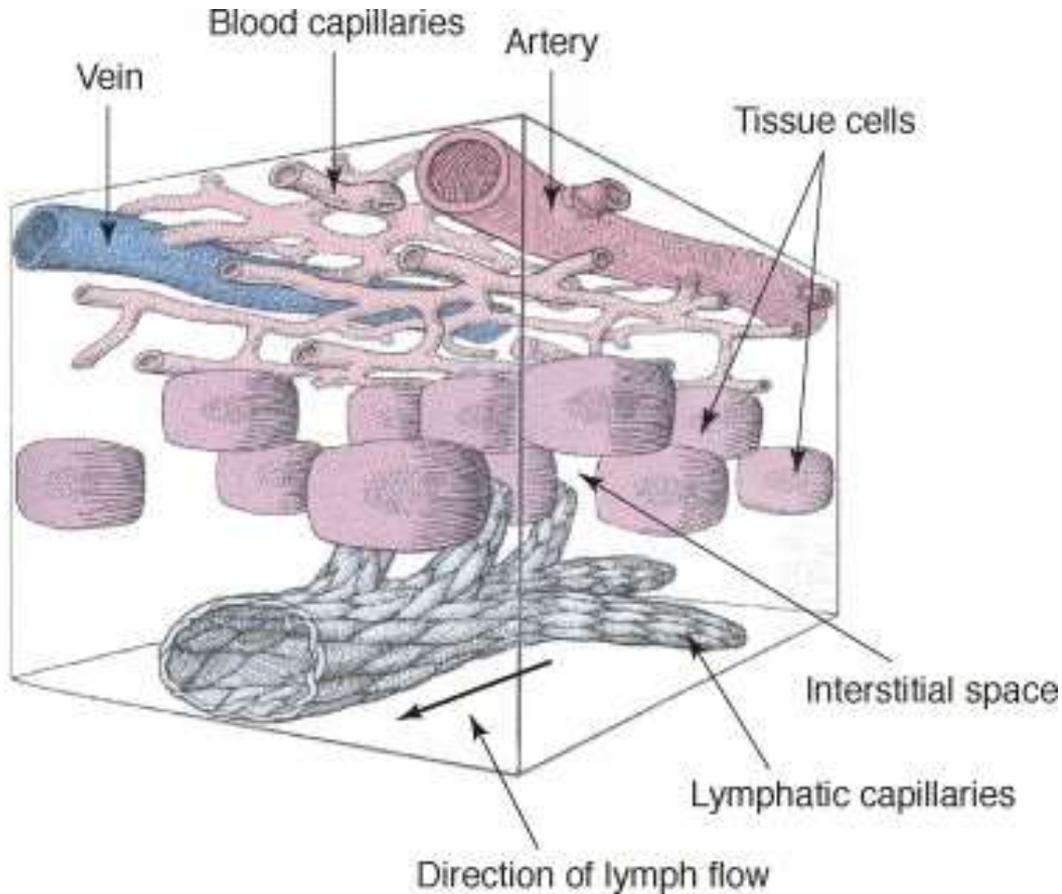
Por lo tanto su desarrollo es complejo



Cinética de IgG (obviedades)

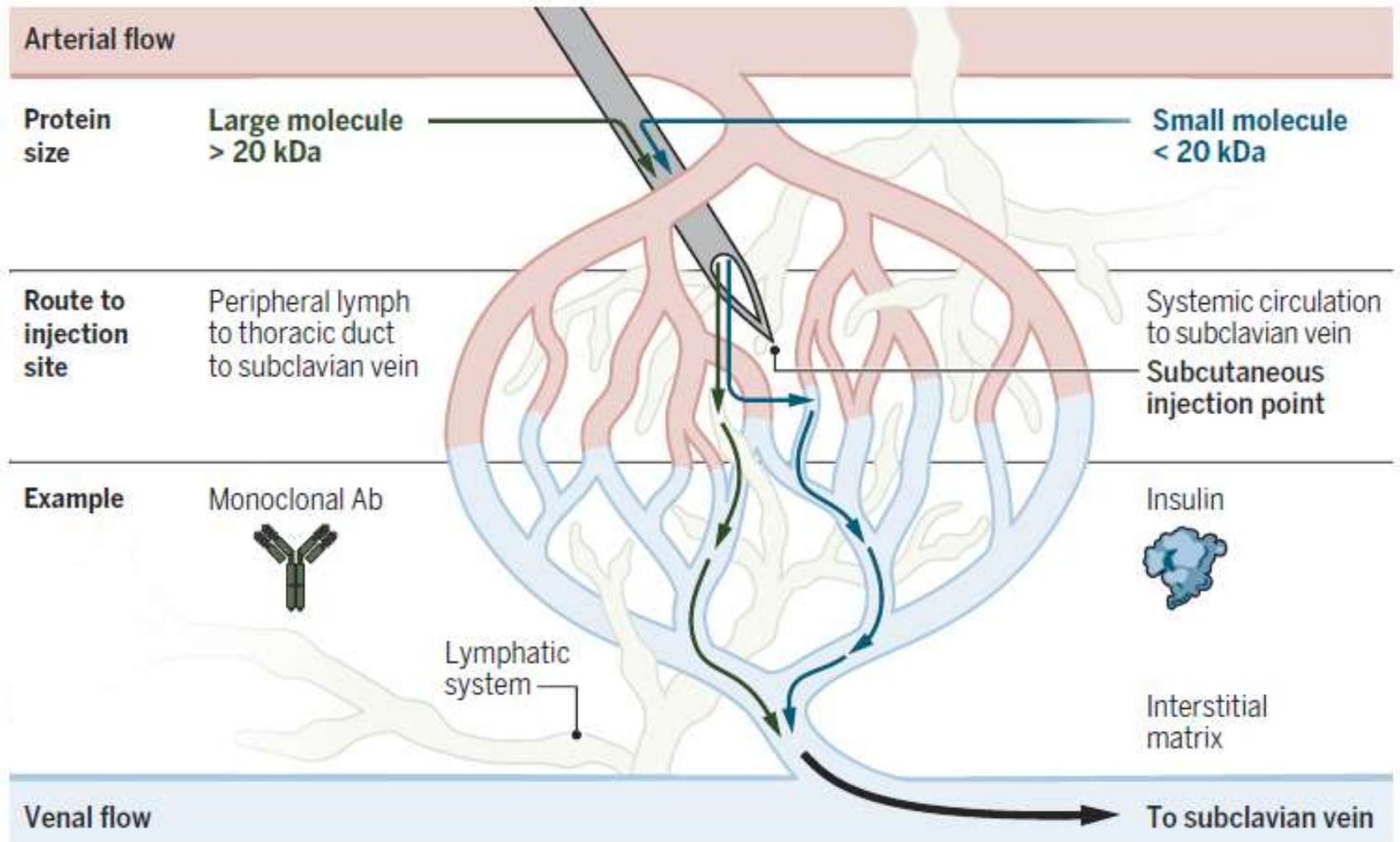
- Son proteínas de alto PM, por lo que en general requieren administración parenteral (IV, IM o SC, según la Ig y el uso).
- SNC: mecanismos de eflujo
- Eliminación: fundamentalmente biotransformación, con componentes variables según acceso a tejidos y células por FcR.
- La vida media de la mayoría de los mabs es 2 a 4 semanas (aunque para IgG3 es más corta, aproximadamente 1 semana)

Particularidades del uso SC

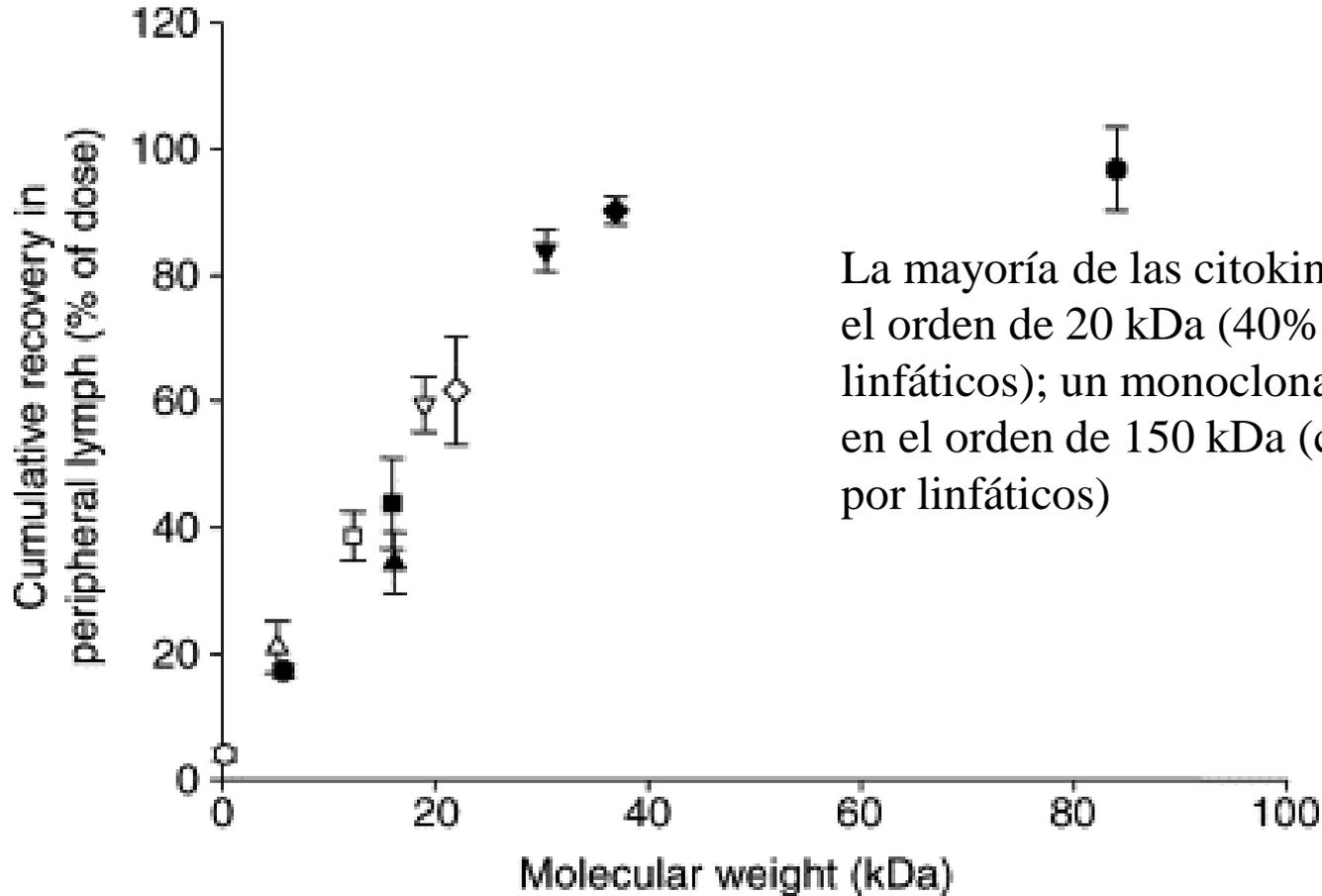


Esquema del sitio de inyección al utilizar la vía subcutánea. Una parte importante de la proteína inyectada se absorbe por vía linfática en vez de ingresar directamente a sangre, como ocurre con muchas drogas de pequeño tamaño (< 1 kDa). El tamaño es crítico para determinar qué fracción ingresa por linfáticos y qué fracción accede directamente a la sangre.

El tamaño determina por dónde ingresa



Cuanto mayor tamaño, mayor dependencia de la vía linfática



La mayoría de las citokinas tiene Mr en el orden de 20 kDa (40% va por linfáticos); un monoclonal se encuentra en el orden de 150 kDa (casi el 100 % por linfáticos)

Drug Discovery Today: Technologies

Dominios relevantes para cinética de monoclonales



Además de estos aspectos generales, en los que hay grandes variaciones, pueden existir componentes particulares en casos específicos.

Glicosilación

- Los monoclonales terapéuticos tienen una asparagina en una secuencia consenso (Asn)-X-Ser/Thr, donde X es cualquier aminoácido salvo prolina, para glicosilación en la posición Asn297 del dominio constante CH2 de la cadena pesada.
- Algunos mAb además aceptan glicosilación en el Fab (por ej. cetuximab en Asn88 de la región VH).
- También hay sitios adicionales en el Fc de algunas proteínas de fusión, como el etanercept, para recibir glicanos ligados en O (*O-linked glycans*).

En el hígado

- Los receptores de glicanos relacionados con la remoción *in vivo* de glicoproteínas incluyen
 - el receptor de manosa, y
 - el receptor de asialoglicoproteína.
- Ambos son receptores de endocitosis específicos para carbohidratos particulares que se expresan en hepatocitos y en células de Küpffer, y en las células endoteliales de los sinusoides, respectivamente.

Proteínas de fusión

- Las proteínas de fusión con un Fc tienen menor vida media que la IgG completa. lo cual ha sido atribuido a su menor afinidad por el FcRn, a la remoción mediada por los receptores de glicanos, y a la mediada por el receptor del ligando de la molécula fusionada.
- Los patrones de glicosilación parecen ser los más importantes para determinar el *clearance in vivo* de las proteínas de fusión con un Fc.
- En un ejemplo la exposición sistémica se correlacionó positivamente con la cantidad de sialidación, de forma que un contenido más alto de ácido siálico resultaba en mayor exposición.

Eliminación de Igs

- Clásicamente, los fagocitos profesionales son responsables de la “recolección” y eliminación de anticuerpos a través de interacciones con la porción Fc.
- Los macrófagos, los monocitos y los neutrófilos expresan subconjuntos de receptores Fc, como el Fc γ R, que luego puede eliminar complejos inmunitarios (la Ig ligada a un antígeno) o Ig solas.
- Otro, el receptor Fc neonatal (FcRn) es clave para la eliminación de IgG *in vivo* y la vida media sérica de un anticuerpo es directamente dependiente de la función de este receptor.

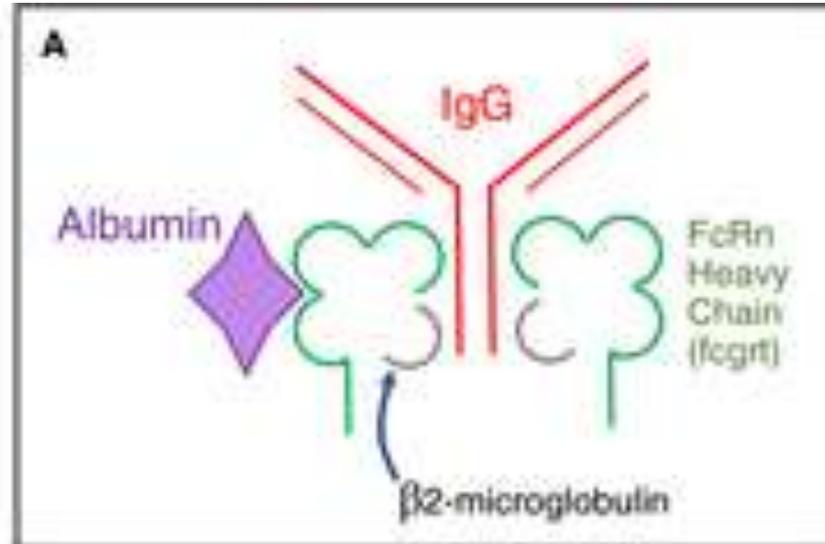
El principal determinante de su vida media es unión al FcRn

Tiene diferentes afinidades por Fc en distintos valores de pH

Receptor para Fc neonatal (FcRn)

- Aunque FcRn está presente en la membrana plasmática, no se une a IgG a pH 7,4, pero sí a pH de 6 e inferior.
- Por lo tanto, FcRn se activa después de que IgG se internaliza junto con otras proteínas por pinocitosis.
- Cuando el pH desciende a 6 en los compartimentos endosómicos, dos moléculas de FcRn se unen y retienen una molécula de IgG, mientras que otras proteínas, incluido el exceso de IgG, se derivan a los lisosomas para su degradación.
- La IgG unida a FcRn se transporta de vuelta a la membrana plasmática donde se libera a un pH de 7,4.
- Además de IgG, FcRn simultáneamente salva albúmina. Los sitios de unión para IgG y albúmina en FcRn son diferentes y se pueden bloquear de forma independiente.
- Cuando se satura la vida media de la IgG disminuye.

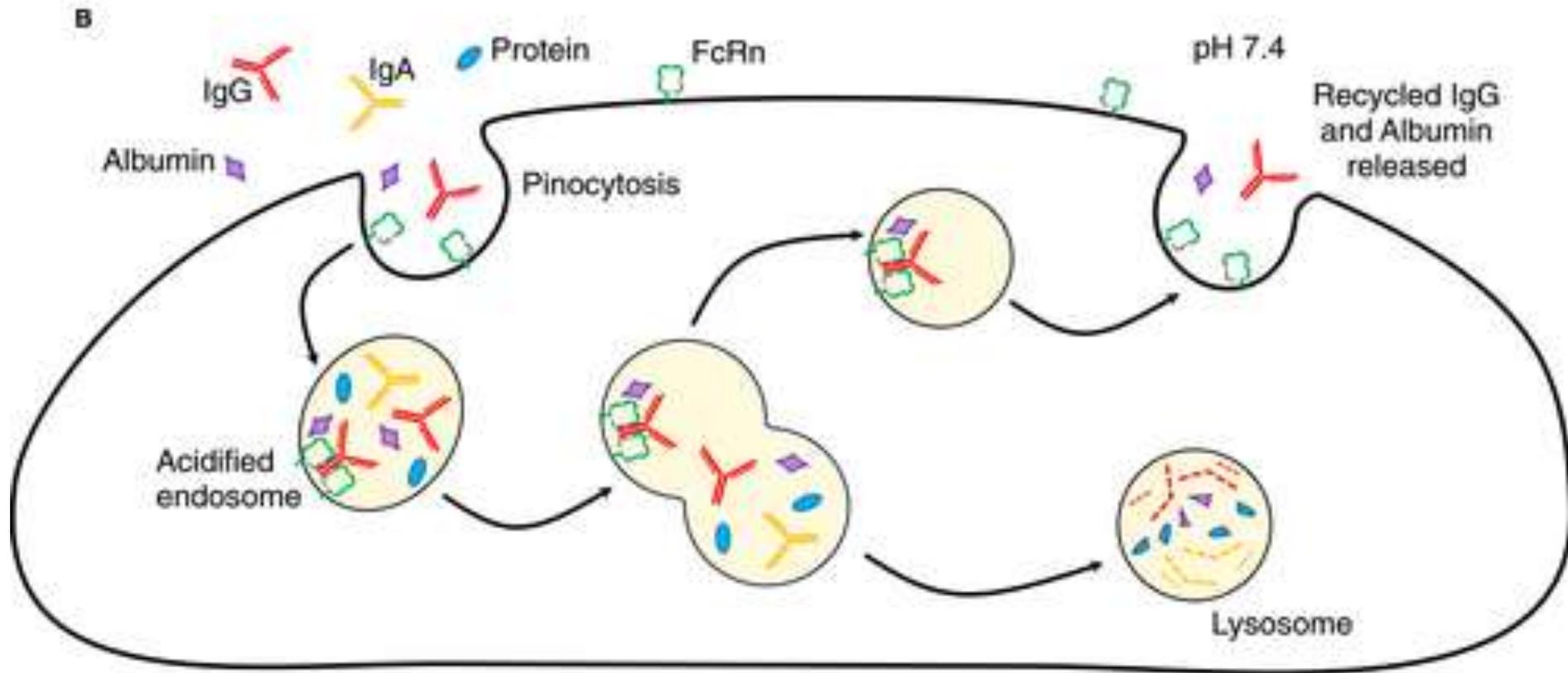
Estructura de FcRn



FcRn consta de β 2-microglobulina asociada con una cadena pesada similar a MHC de clase I codificada por el gen *fcrgt*. **FcRn se une a IgG en una proporción de 2:1.** La albúmina se une a FcRn en un sitio separado.

Baldwin *et al.*, Am J Transplant. 2019 Jul;19(7):1881-1887.

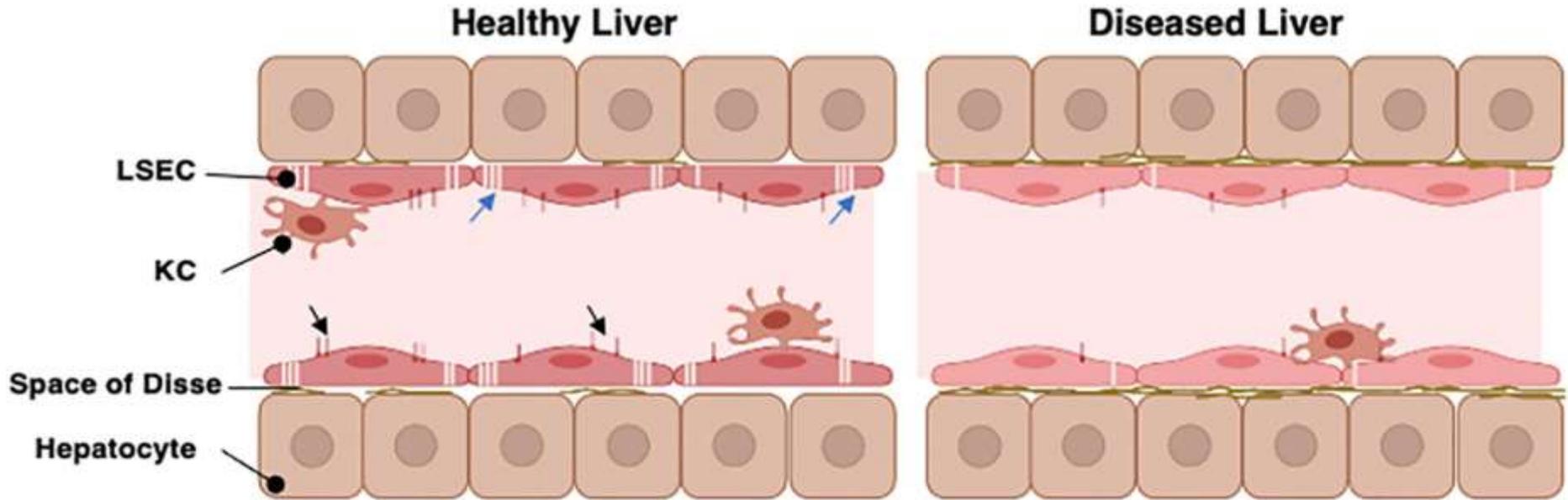
Rescata IgG y albúmina en pinocitosis



Función del FcRn

- La IgG ingerida se encuentra en vesículas pinocíticas que se fusionan con los endosomas.
- Durante su maduración estas vesículas se acidifican cada vez más, lo que permite la unión de IgG con FcRn (mostrado en azul) separando lo que no está unido.
- Las IgG unidas a FcRn son retenidas y se reciclan a la superficie celular donde se liberan a la circulación por exocitosis tras disociarse por el pH.
- El exceso de IgG no unida al FcRn ingresa a los lisosomas para su degradación.

Un sitio muy relevante es hígado



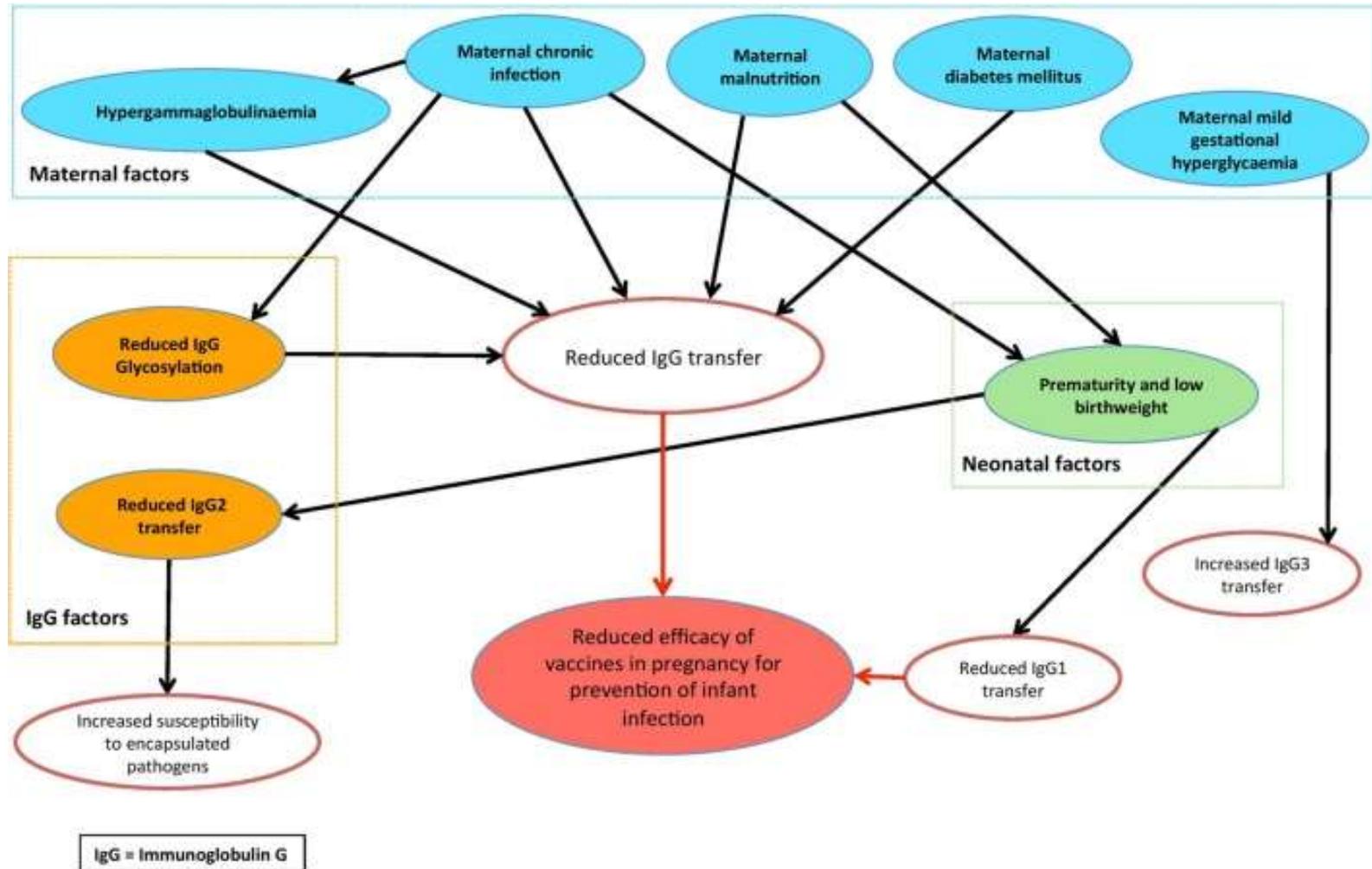
Tanto las células de Kupffer como las células endoteliales de los sinusoides expresan FcRn y son importantes para determinar la vida media de los mabs. Los que tienen pI básico tienen mayor direccionamiento al hígado.

James *et al.*, Front Physiol. 2022 Jan 14;12:753833.

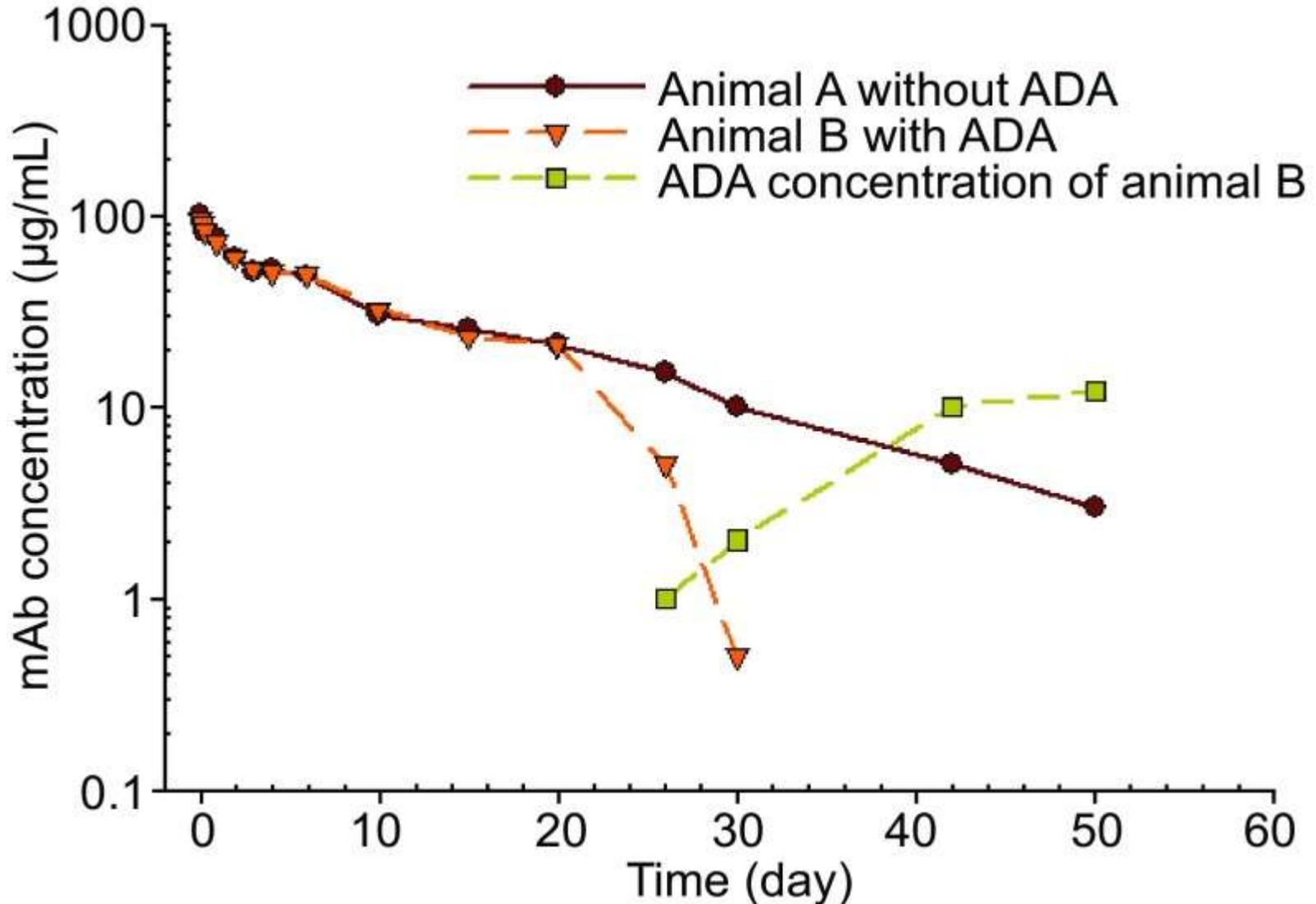
Características de los sinusoides

- Su endotelio se asienta sobre la capa de hepatocitos, separados por el Espacio de Disse que contiene una membrana basal mínima en un hígado sano. Las células de Küpffer (KC) son macrófagos especializados que patrullan a lo largo de los sinusoides.
- Las LSEC tienen poros especializados en la superficie de sus células (las fenestraciones, flechas azules), organizadas en placas de tamiz para facilitar el intercambio directo de materiales entre el parénquima hepático y el torrente sanguíneo.
- El LSEC también expresa receptores depuradores, además de receptores Fc. En enfermedades crónicas o hígados envejecidos, las LSEC cambian: Pierden la mayor parte de sus fenestraciones y alteran la abundancia de receptores Scavenger y Fc. También producen una membrana basal más compleja.

El FcRn es también el responsable del pasaje por placenta



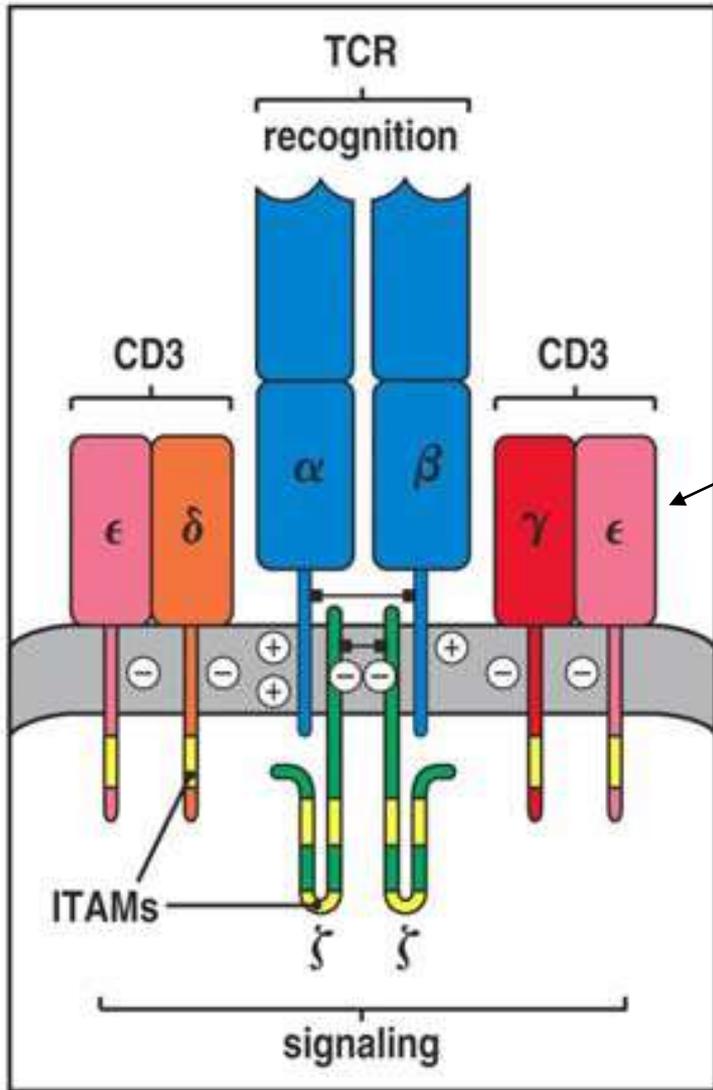
Pueden ser inmunogénicos y eso afectar la dosis o la respuesta



Clasificación de efectos adversos

Tipo de reacción	Clave	Características	Ejemplos	Manejo
A. Relacionado con la dosis	Aumentado	Comunes, relacionados con la acción farmacológica de la droga. Predecibles y de baja mortalidad.	Efectos tóxicos (ej. arritmia por digoxina) y efectos colaterales (visión borrosa por anti-H1)	Reducir o suprimir la droga. Considerar el efecto de drogas concomitantes.
B. No relacionado con la dosis	Bizarro	Poco comunes, en general no relacionadas con la acción farmacológica de la droga, poco predecible, con alta mortalidad.	Reacciones por hipersensibilidad o por idiosincrasia.	Suprimir y evitar en el futuro.
C. Relacionado con la dosis y el tiempo	Crónico	Poco comunes, relacionados con la dosis acumulativa.	Supresión del eje HHA por corticoides	Reducir la dosis o suspender, a veces en tiempos prolongados
D. Relacionado con el tiempo	Diferidos	Poco comunes, relacionados en general con la dosis. Ocurren o se evidencian tras finalizar el tratamiento.	Teratogenia (DES), carcinogénesis, disquinesias tardías.	Frecuentemente intratables.
E. Supresión o abstinencia	<i>End of dose</i>	Poco comunes, se presentan a poco de haber suprimido la droga.	Abstinencia de opiáceos, infarto al suspender β -bloqueante	Reiniciar la droga y suspender lentamente
F. Falla inesperada del tratamiento	Falla	Comunes, relacionados con la dosis, frecuentemente causados por interacciones.	Dosis inadecuada de anticonceptivo por inductores de CYP450	Aumentar la dosis Considerar el efecto de drogas concomitantes

Muromonab (OKT3)



Blanco del muromonab

Muromonab es la DCI del anticuerpo desarrollado originalmente como OKT3.

Rápidamente demostró ser un excelente inmunosupresor (induce modulación de CD3 e inactivación T), empleado en rechazo agudo, pero poco apropiado para uso repetido por ser **100% de origen murino** (es una IgG2a).

Fue el primer monoclonal en ser aprobado para uso terapéutico en humanos (**1986**, como Orthoclone OKT3®, Ortho Biotech) y también el primero en demostrar lo que ahora llamamos tormenta de citocinas.

Además de poder activar directamente la producción de diversos mediadores inmunológicos (por ejemplo la tormenta de citokinas recién mencionada), los monoclonales pueden ser reconocidos como blanco de una respuesta inmune, es decir, ser ellos mismos antigénicos)

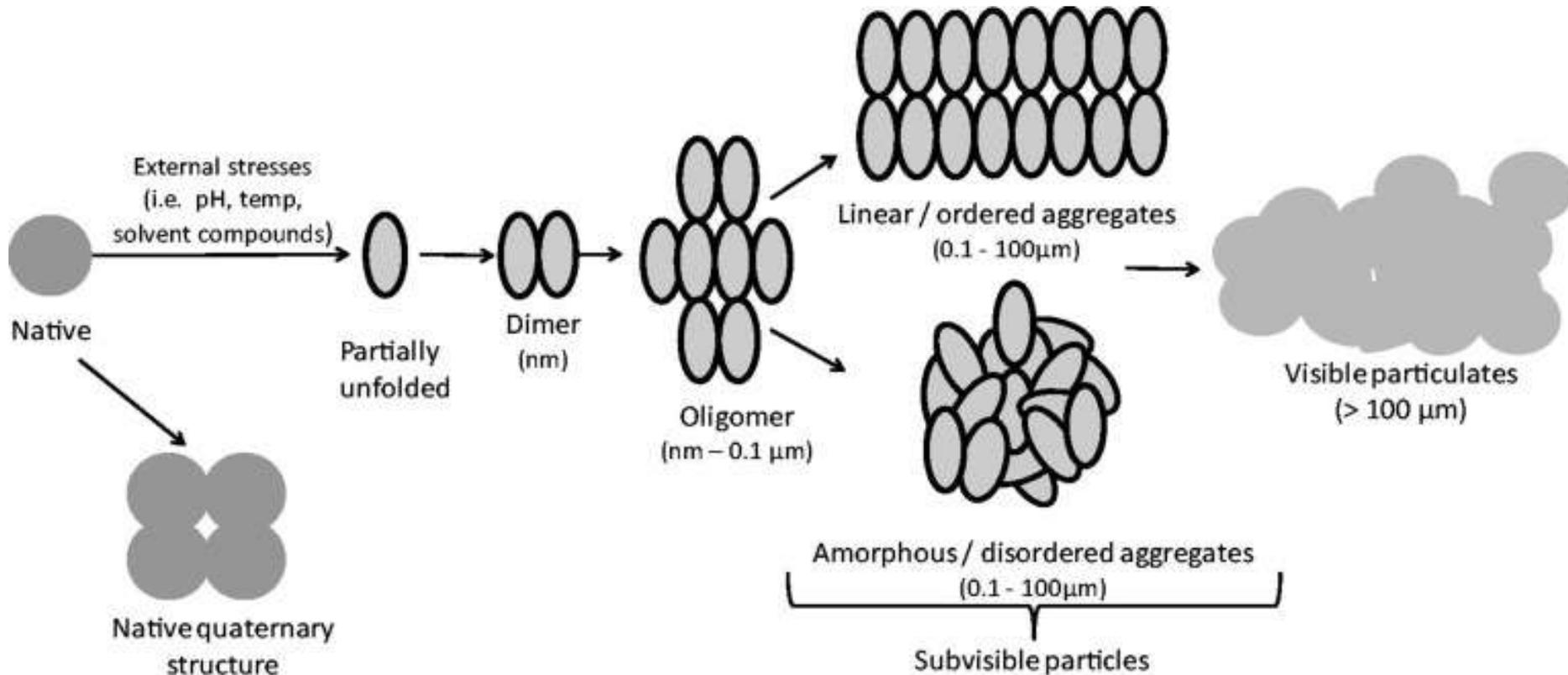
Inmunogenicidad

Cualquier proteína en condiciones apropiadas puede ser inmunogénica aunque hay diferencias...

¿Por que son inmunogénicas las proteínas? (todas)

- Identificación de antígenos nuevos:
 - Proteínas heterólogas (es decir, de origen no humano, como caballos o ratones).
 - Falta de tolerancia porque nunca pudo generarla debido a falta de la proteína endógena correspondiente (terapia de reemplazo en hemofilia o algunos pacientes con deficiencia de GH).
 - Falta de tolerancia para variantes nuevas, como el sitio de unión de un anticuerpo (generado por el rearrreglo de las regiones hipervariables)
 - Nuevos epitopos en una proteína de fusión (por ej. etanercept).
- Quiebre de la tolerancia pre-existente:
 - Formación de agregados
 - Oxidación u otros cambios estructurales.
 - Otros mecanismos

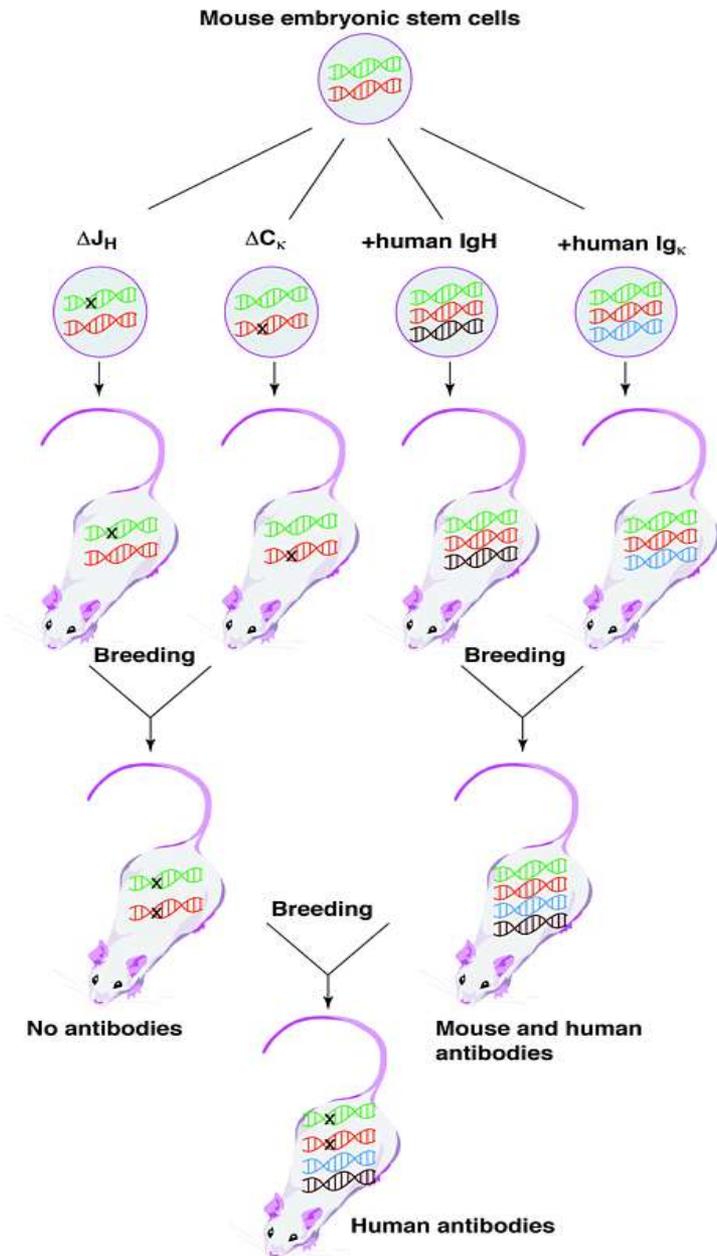
Agregación es una de esas variables



Estrés asociado al procesamiento puede causar desplegamiento parcial de la proteína e iniciar su agregación, mediante unión de dos o más moléculas de la misma. Se pueden formar oligómeros (con 3 o más monómeros), lo cual conduce a agregados de mayor tamaño (partículas sub-visibles), tanto lineares (donde se asocian en forma uniforme, de tipo amiloide) como amorfos, en los que la asociación es desordenada. Se pueden formar partículas visibles, ya que los agregados pre-existentes pueden servir de núcleo para la formación de agregados mayores. Ratanji *et al.*, J Immunotoxicol. 2014; 11:99-109.

¿Qué consecuencias tiene?

- La producción de una respuesta inmune (no sólo anticuerpos, aunque son lo más estudiado) contra la proteína puede afectar varias propiedades relevantes:
 - La cinética (los complejos proteína-anticuerpo son clarificados por diversos mecanismos, incluso receptores para Fc, acelerando su eliminación por algunos mecanismos y dificultando otros y cambiando su distribución)
 - Su farmacodinamia, tanto en acción terapéutica como seguridad. La situación extrema es la neutralización o desaparición de la proteína, lo que a su vez puede afectar la dosis.
- Adicionalmente, la respuesta inmune en curso puede activar complemento u otros mecanismos potencialmente lesivos.



Humanización

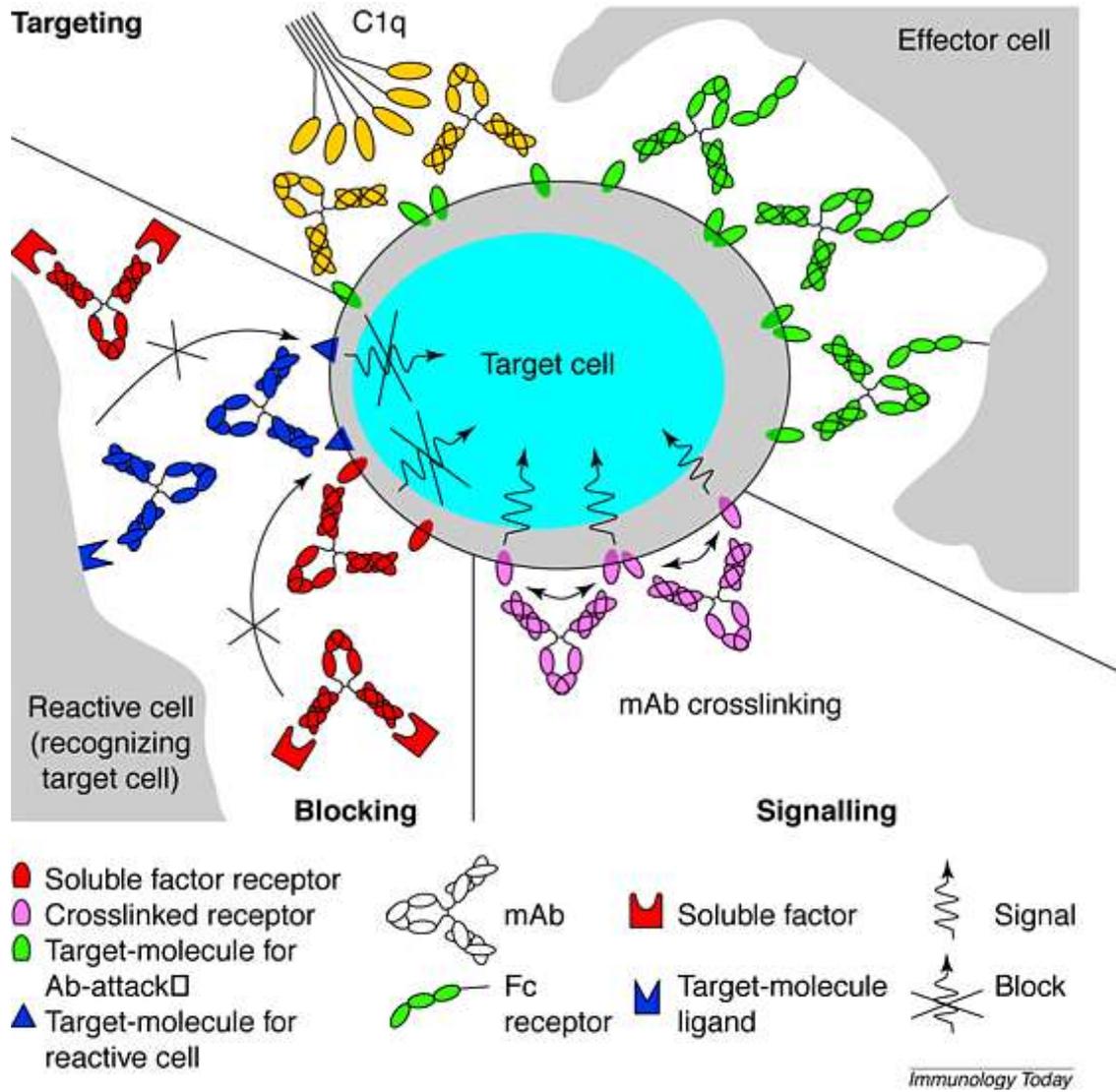
Basiliximab y daclizumab (discontinuado para trasplante)

- Comparten la mayoría de las propiedades.
- Especificidad: anti-CD25 (cadena α del receptor de IL-2, de expresión inducible)
- Ambos son, en sentido amplio, más “humanos” (uno quimérico y el otro humanizado).
- Indicación aprobada: profilaxis del rechazo agudo en trasplante renal (en regímenes que incluyan ciclosporina y corticoides).
- Administración subcutánea o I.V.

Palivizumab

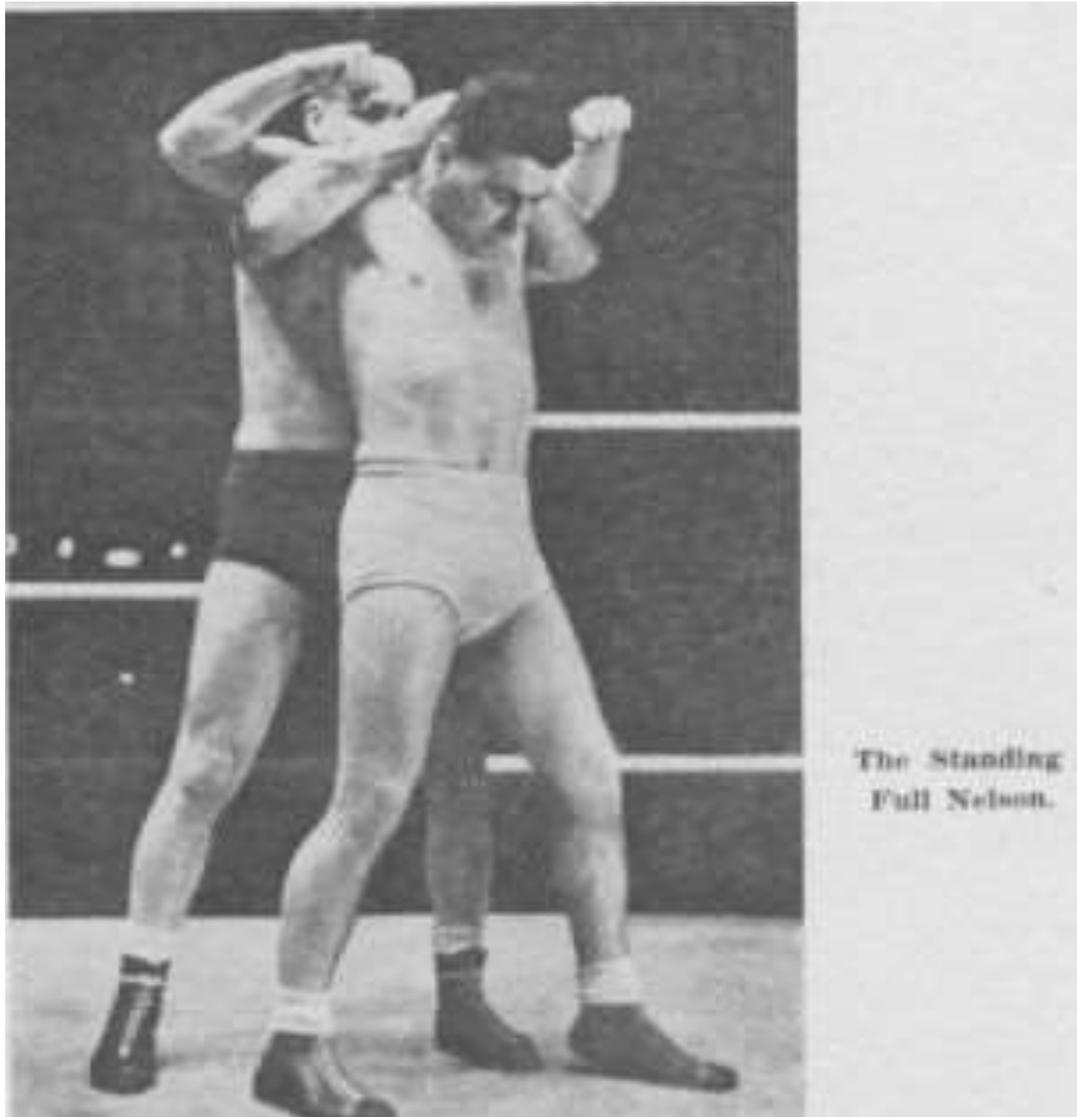
- Primer monoclonal de uso en una enfermedad infecciosa (RSV)
- Especificidad:
- Humanizado.
- Indicación aprobada: profilaxis de infección severa por RSV en pacientes pediátricos de riesgo, mientras circula el virus.
- Administración: subcutánea.

Actividad biológica de monoclonales



Dependiendo del blanco (especificidad del mab) y tipo de Ig que sea, puede tener cualquiera de las actividades de las Igs, como bloquear el antígeno, opsonizar, activar complemento, etc.)

Eliminación inmune de tumores

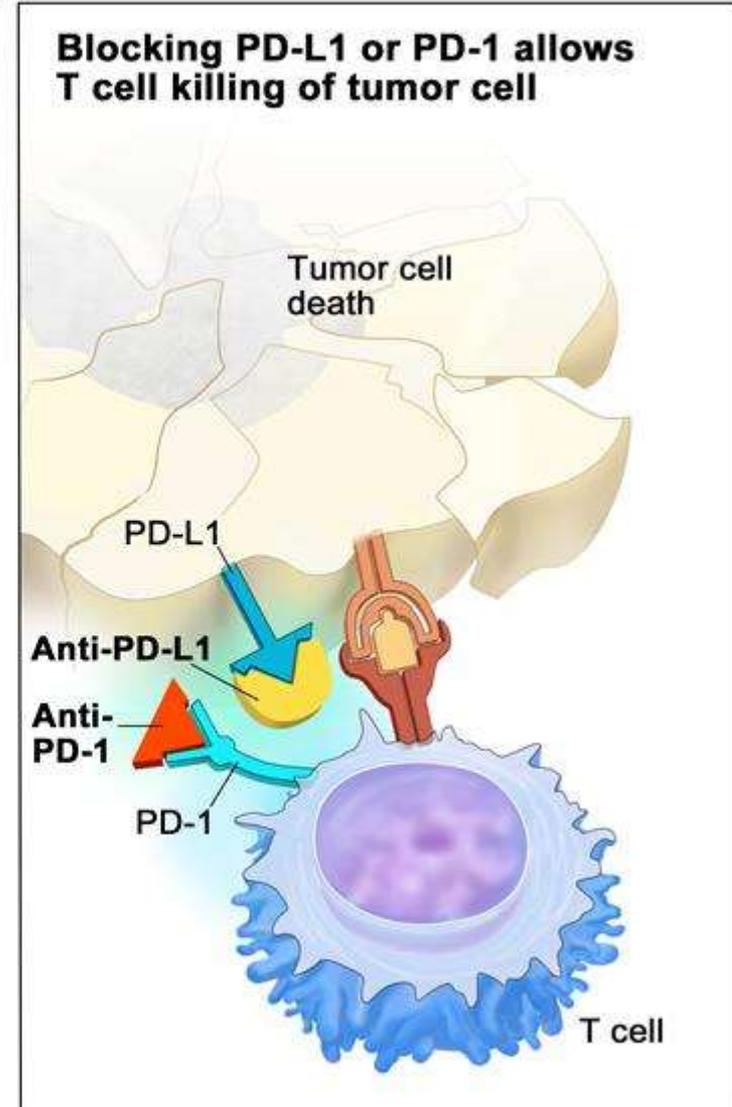
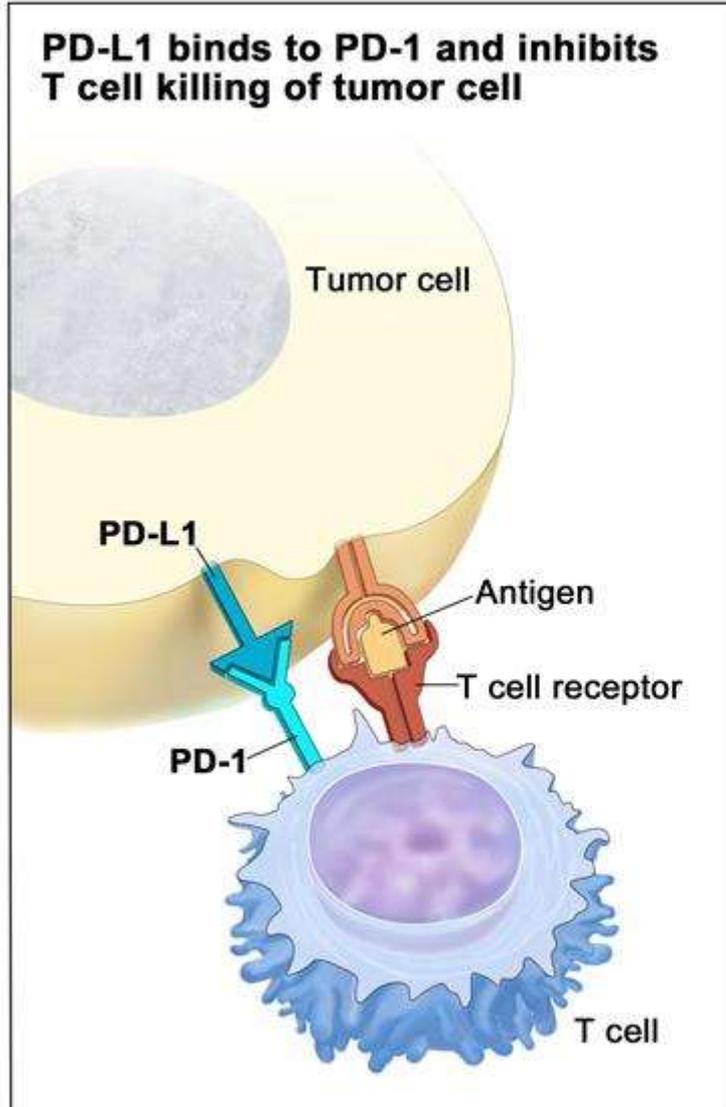


Se parece a la lucha libre, con muchas “trampas”

Diversos tipos de células tumorales son capaces de bloquear la actividad citotóxica de células como los CTL.

Una de las formas es frenar su actividad aprovechando sus puntos de control (*checkpoints*)

Bloqueo de *check-points*



© 2015 Terese Winslow LLC
U.S. Govt. has certain rights

Varios mabs bloquean algún *checkpoint*

Monoclonal	Blanco
Ipilimumab	CTLA-4 en los CTL
Tremelimumab	CTLA-4 en los CTL
Nivolumab	PD-1 en los CTL
Pembrolizumab	PD-1 en los CTL