

Immunoteràpia

- Tractaments encaminats a activar, potenciar o suprimir la resposta immunològica d'un pacient per tal de fer front a malalties infeccioses, tumorals, autoimmunitàries, al·lèrgies, fenòmens de rebuig en els trasplantaments...
- L'objectiu pot ser curatiu o preventiu.
- Alguns dels mètodes utilitzats en immunoteràpia són els anticossos monoclonals, les vacunes, els sèrums, les citocines, ...

Els resultats obtinguts en aquests primers anys del segle XXI situen la immunoteràpia entre les àrees mèdiques amb més potencialitat de tractament.

- El sistema immunitari d'un individu es pot avaluar mitjançant **proves diagnòstiques** que permeten la identificació, la quantificació i l'estudi de la capacitat funcional dels seus components.
- A la pràctica, aquestes tècniques diagnòstiques es realitzen quan hi ha sospita d'alguna alteració immunitària.
- Existeixen proves específiques per a l'estudi de les malalties autoimmunitàries, de les al·lèrgies, de les immunodeficiències, del rebuig en els trasplantaments, dels processos tumorals, etc.
- Moltes d'aquestes tècniques es basen en la gran especificitat de la reacció antígen-anticòs, per això **els anticossos s'han convertit en una eina imprescindible en els laboratoris**.
- Els immunoassaigs* a més, han trobat múltiples aplicacions en àrees de laboratori com la bioquímica, la microbiologia i l'hematologia, fent possible la detecció i quantificació d'hormones, patògens, grups sanguinis, cèl·lules tumorals, etc.

* Conjunt de tècniques analítiques de laboratori que es basen en la formació de complexos antígen-anticòs per detectar i/o quantificar una determinada substància.

Immunoteràpia: puntualitzacions

- La idea d'incrementar la resposta immunitària és la base de les vacunacions clàssiques: **immunopotenciació**
- L'aplicació d'immunosupressors farmacològics ha estat l'element definitiu de l'èxit dels transplantaments: **immunosupressió**. Els immunosupressors també han esdevingut una opció terapèutica eficient per al tractament de malalties autoimmunitàries. L'objectiu de les immunoteràpies és la **tolerització**, la inducció en el sistema immunitari d'una no-resposta activa, una «reprogramació» del sistema que aprèn a no respondre malgrat reconèixer. En aquest sentit han aparegut immunoteràpies altament prometedores que busquen aquesta tolerització.
- **Immunomodulació**. Aquest és el concepte més habitual en la immunoteràpia, ja que quan es potencien o es suprimeixen respostes, en general no es fa de manera absoluta (ni es vol) i molt sovint hi intervenen components d'una opció en l'altra, la reducció d'una resposta no volguda, s'aconsegueix potenciant altres components del SI. El que es preten obtenir deliberadament és la **modulació de la resposta**.
- **Citocines** (bàsicament interferons, interleucines i factors de creixement) i **anticossos** (generalment monoclonals) formen part dels anomenats **fàrmacs biològics**. La introducció d'aquests fàrmacs ja s'està produint sota el concepte d'immunomodulació. L'administració de citocines o la infusió d'anticossos monoclonals el que pretén és reequilibrar la complexa xarxa d'interaccions moleculars i cel·lulars que componen la resposta immunitària.

Immunoteràpia contra les anomalies d'autoimmunitat

Contra anomalies d'autoimmunitat

- Drogues immunosupressores: com corticosteroides o ciclosporina A que redueixen la proliferació dels limfòcits.
- Extirpació de la glàndula tiroides.
- Plasmafèresi (centrifugació del plasma sanguini per tal d'eliminar els complexos autoantígens-autoanticòs).
- Substàncies bloquejadores dels autoantígens o la inducció de la tolerància a aquests.

Problemes d'hipersensibilitat immediata:

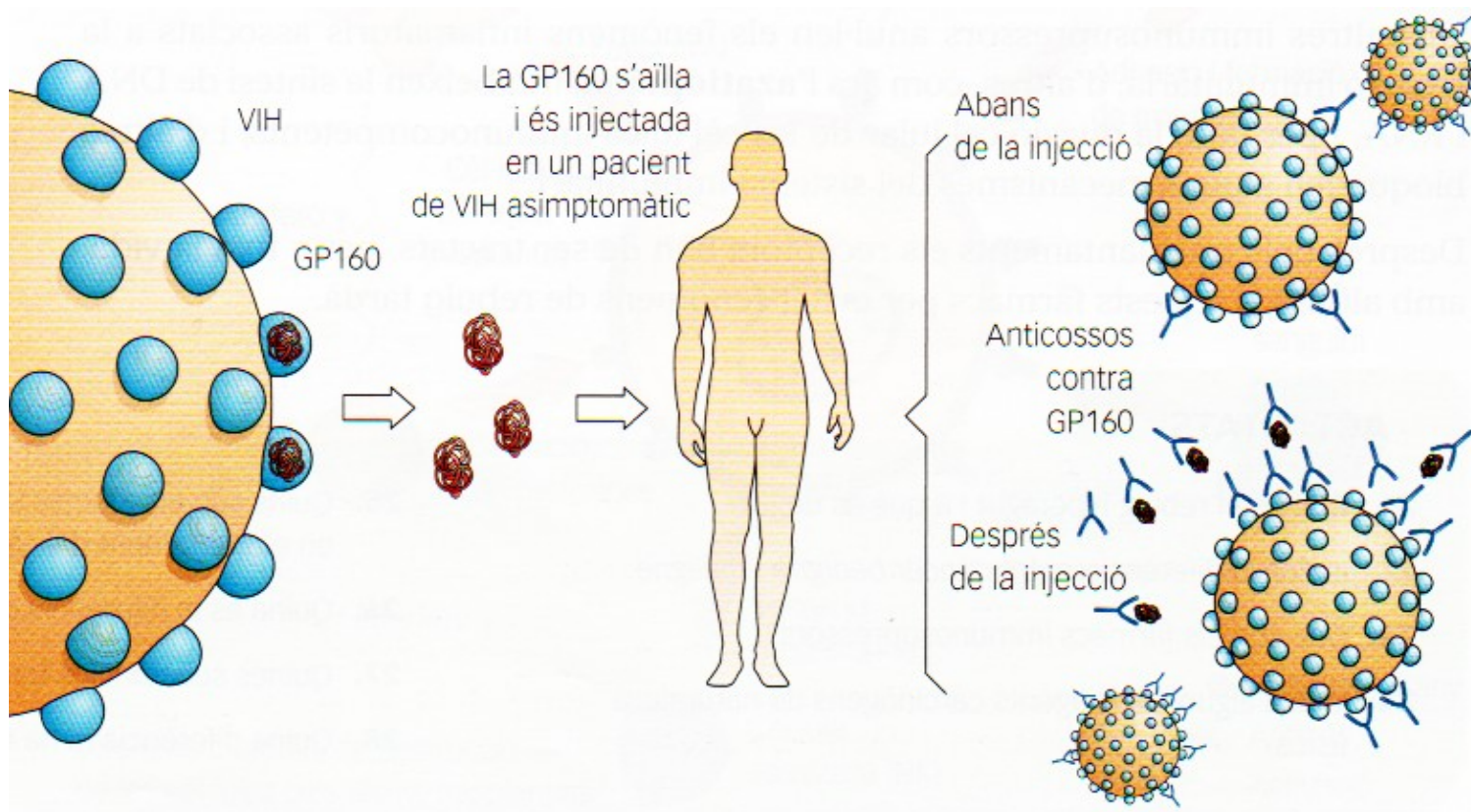
- Antihistamínics que prevenen els efectes de la histamina.
- Injecció periòdica de dosis creixents d'al·lèrgens específics.

Immunodeficiències:

- Mantenir un nivell adequat IgG mitjançant injeccions periòdiques.

Rebuig a trasplantaments

- Administració d'immunosupressors o irradiació d'òrgans limfoides per reduir la població de limfòcits.

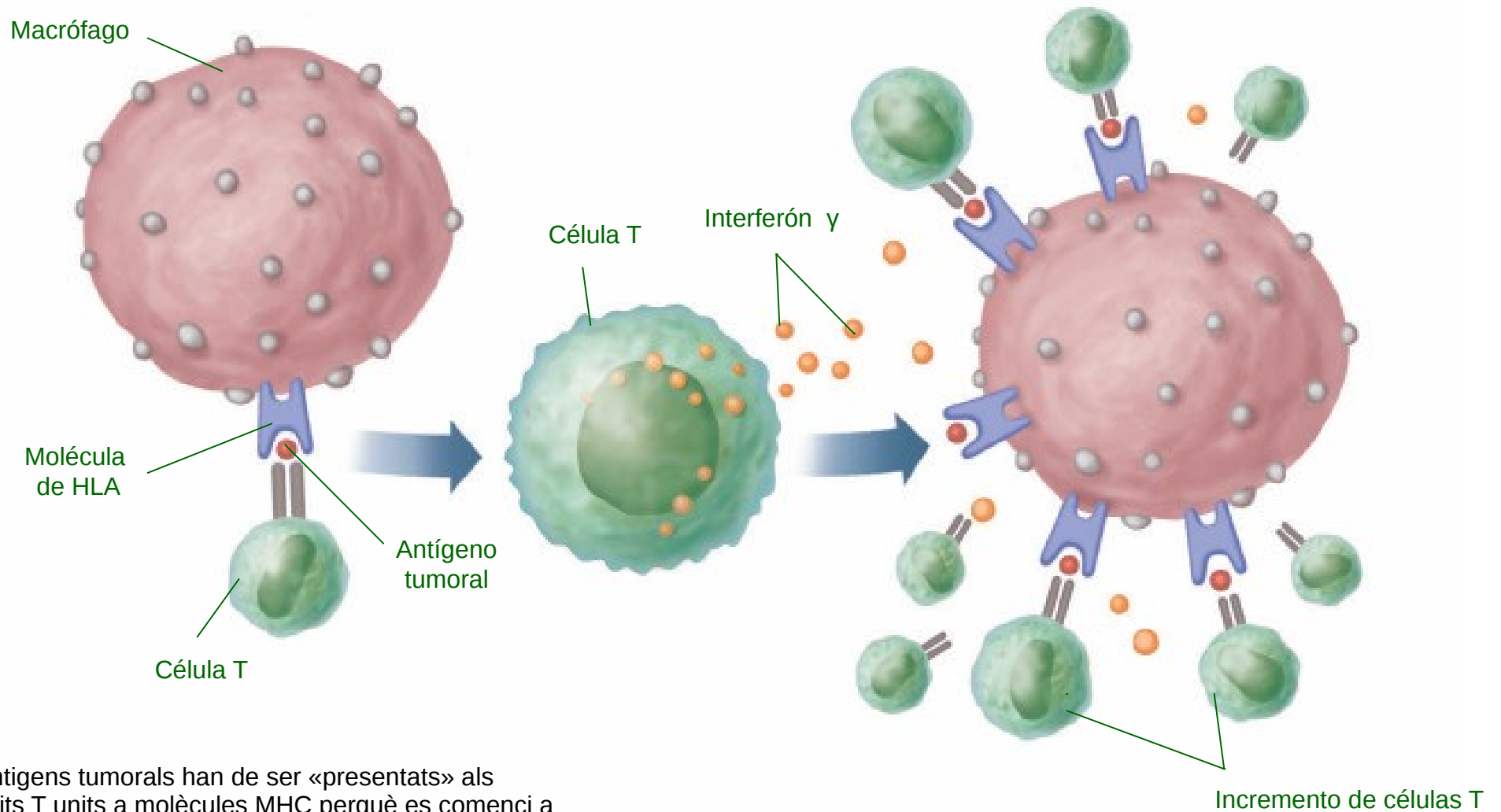


Funcionament d'una de les «vacunes» que s'estan assajant contra el virus de la sida. La injecció d'un extracte purificat de proteïnes del virus provoca que l'individu fabriquï anticossos contra aquestes, i que augmenti el nombre de molècules d'anticossos que podran actuar contra virus sencers.

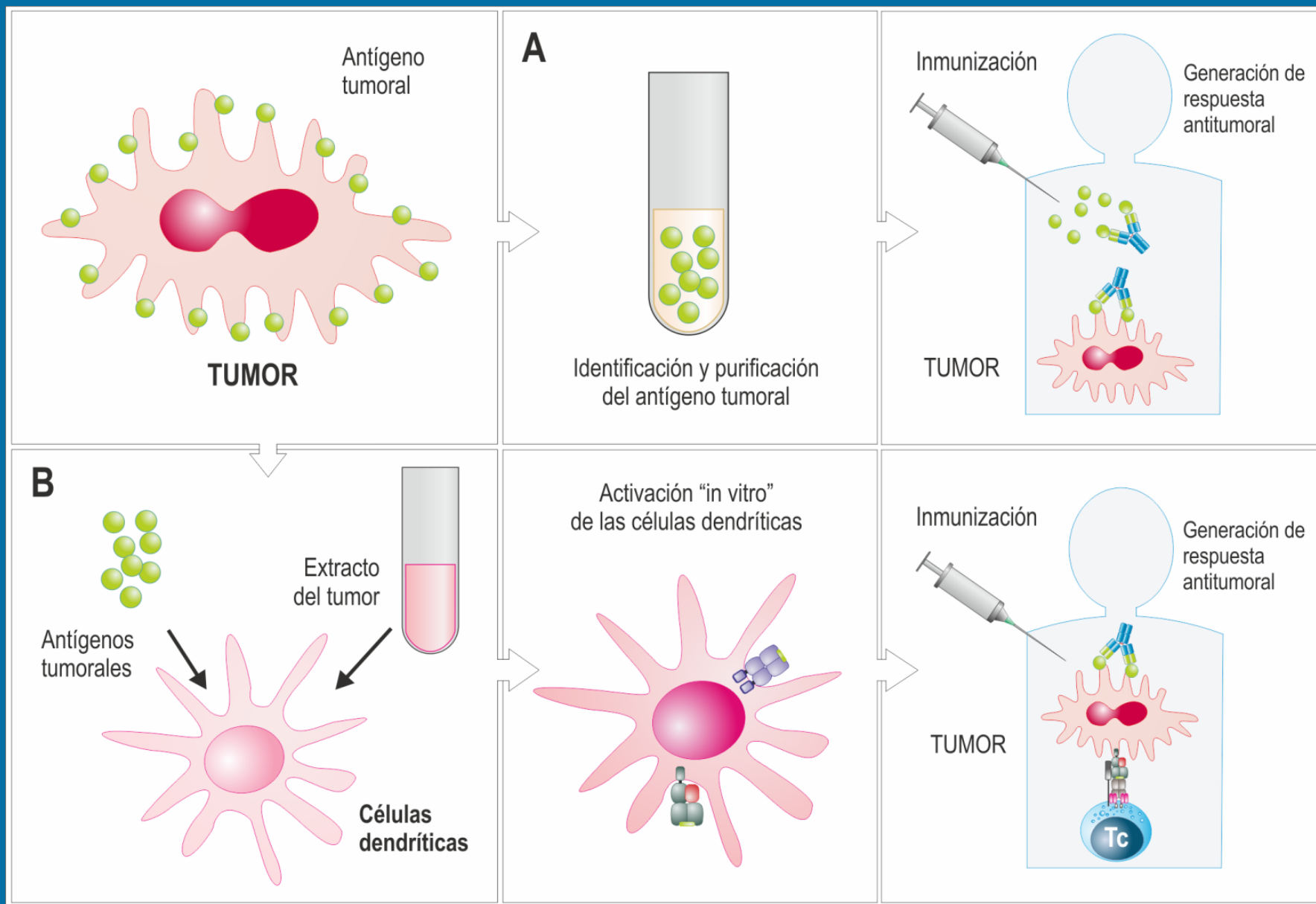
Immunoteràpia del càncer

- El tractament ideal dels tumors hauria de ser aquell que elimines selectivament les cèl·lules canceroses, la qual cosa no s'aconsegueix del tot amb els tractaments convencionals, és per això que el sistema immunitari pot ser utilitzat en terapia tumoral com una eina altament selectiva.
- La immunoteràpia tumoral està molt desenvolupada.
- Hi ha diverses tècniques, la majoria tendeixen a augmentar els mecanismes de defensa de l'organisme: **tractaments d'immunoestimulació**:
 - Algunes substàncies s'injecten en el nucli del tumor per tal d'**estimular l'activitat dels macròfags** (fagocitarien i presentarien millor els antigens tumorals als limfòcits T) i la **producció d'interleucina**.
 - Molècules com l'**interferó** també s'usen en la teràpia del càncer per augmentar els atacs contra els antígens tumorals de les cèl·lules cancerígenes.
 - **Teràpia gènica**: s'està investigant tècniques com l'inserció en les cèl·lules canceroses de **gens específics que augmentin l'activitat del sistema immunitari** o bé **inhibir l'activitat dels oncogens**.

Actuación del interferón γ en la inmunoterapia del cáncer



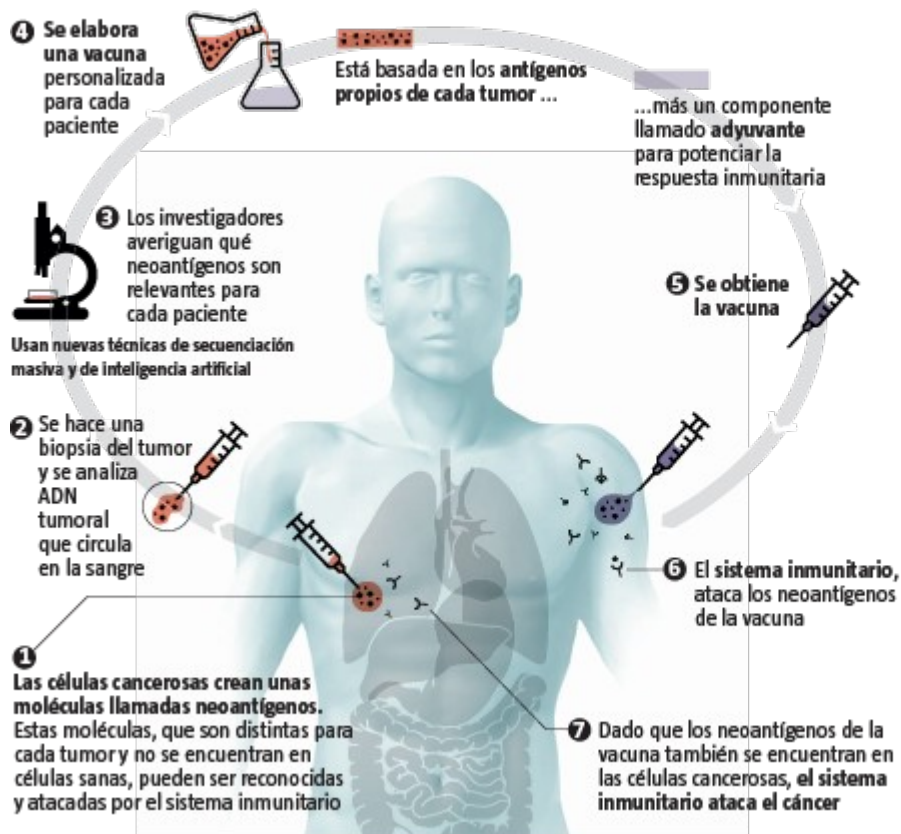
Els antigens tumorals han de ser «presentats» als limfòcits T units a molècules MHC perquè es comenci a desenvolupar la resposta immunitària. L'interferó γ augmenta aquest efecte de «presentació», amb la qual cosa s'aconsegueix activar més quantitat de cèl·lules T.



Algunas estrategias para la inmunización tumoral. **A.** Identificación y purificación de antígenos tumorales para ser usados como vacunas. **B.** La inmunogenicidad puede aumentarse activando in vitro células dendríticas expuestas a los antígenos tumorales o a extractos «crudos» del tumor. Posteriormente, estas células son inyectadas para que activen in vivo a los linfocitos T antitumorales.



CÓMO FUNCIONAN LAS NUEVAS VACUNAS CONTRA EL CÁNCER



FUENTE: Nature

LOS RESULTADOS TRAS RECIBIR LA VACUNA

- Sin rastros del cáncer tras la vacunación
- Sin rastros del cáncer tras complementar la vacunación con fármacos de inmunoterapia
- Con actividad inmunitaria pero no lo suficiente como para erradicar el cáncer
- Fallecido

ESTUDIO DE LA ESCUELA DE MEDICINA DE HARVARD (Boston, EE.UU.)

Tiempo medio de seguimiento: **25 meses**



ESTUDIO DE LA UNIVERSIDAD JOHANNES GUTENBERG (Maguncia, Alemania)

Tiempo medio de seguimiento: **23 meses**

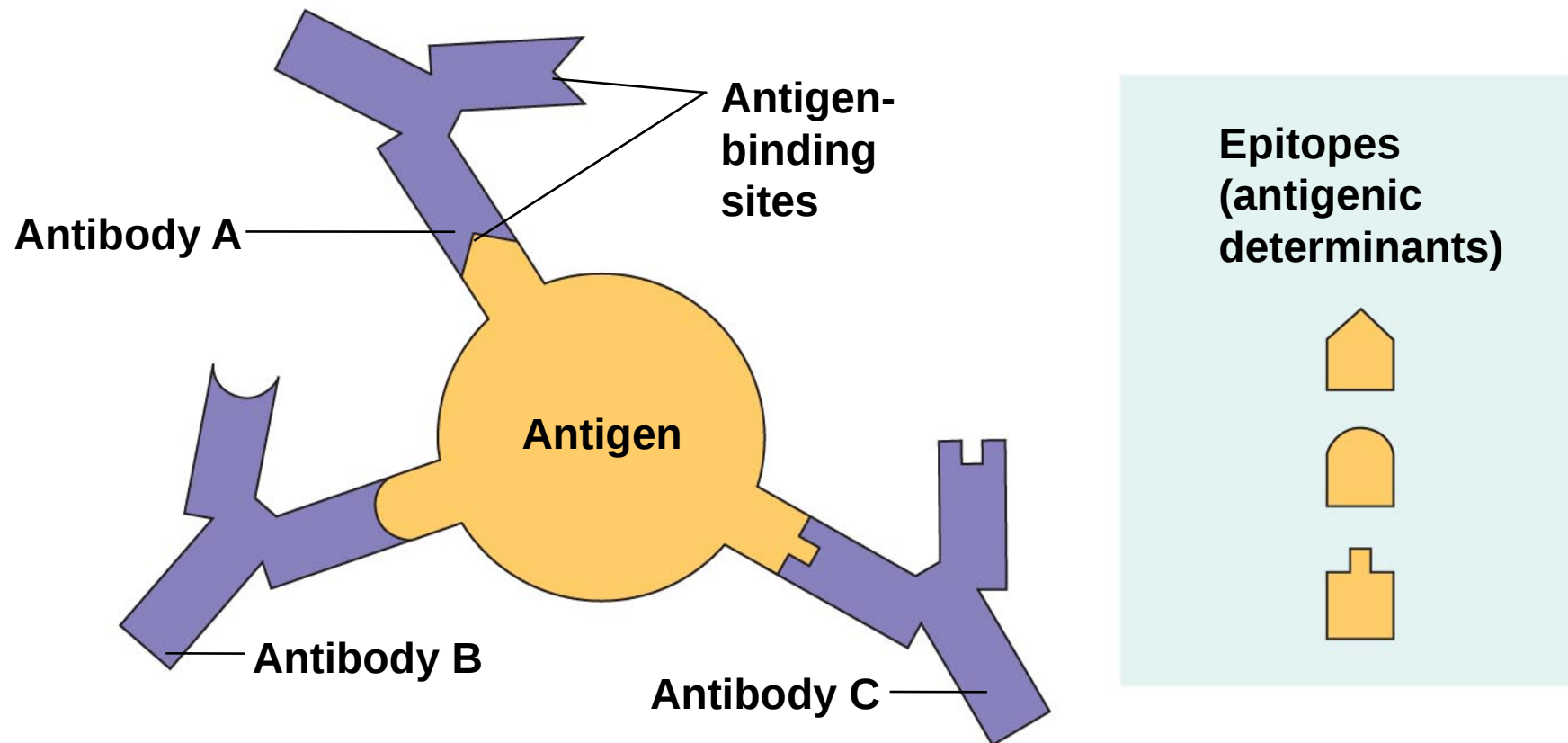


LA VANGUARDIA

Els anticossos monoclonals

Un anticòs monoclonal (AcMo) és aquell anticòs que reconeix específicament una part de l'antigen, és a dir un epítop concret, i que és produït per un únic clon de limfòcits B.

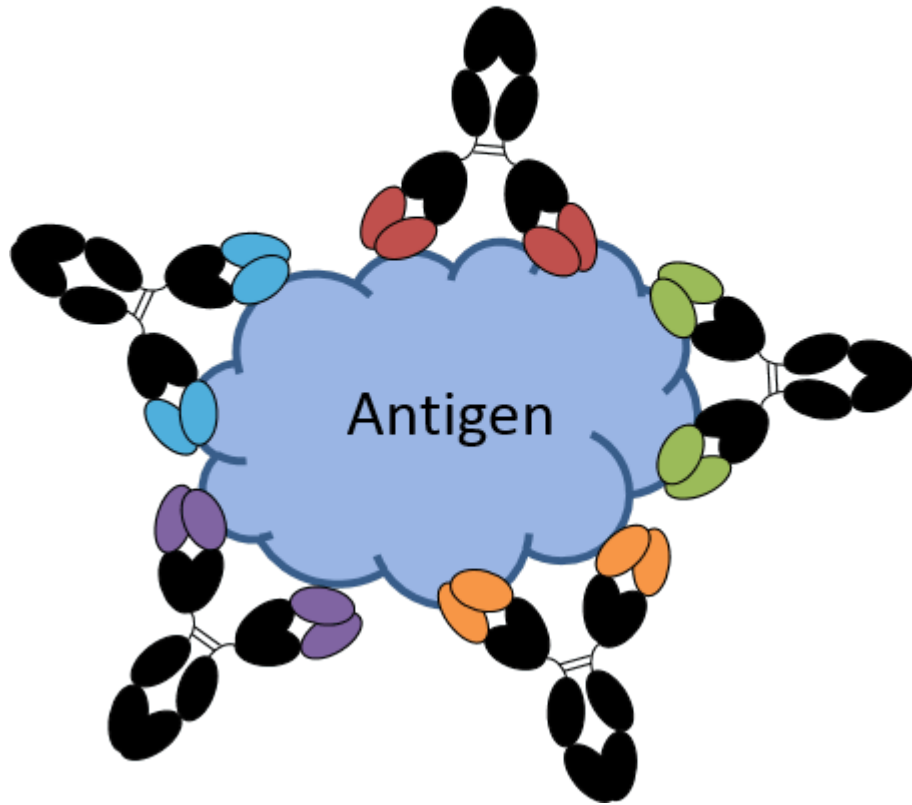
- Fins el desenvolupament dels anticossos monoclonals, l'any 1975, l'us d'anticossos en diagnòstic i/o en teràpia, es centrava amb la utilització dels sèrums convencionals. Aquests sèrums s'obtenen a partir de diferents espècies animals i contenen una barreja d'anticossos produïts per diferents clons de limfòcits B, són **anticossos policlonals**. Aquests anticossos reconeixen amb més o menys mesura l'antigen però amb diferent especificitat i afinitat cadascun d'ells.
- Els sèrums són medicaments molt útils per tractar malalties però són productes molt heterogenis i difícil de reproduir a gran escala per comercialitzar-los.
- Avui dia, per a gairebé tots els procediments diagnòstics són preferibles els anticossos monoclonals.



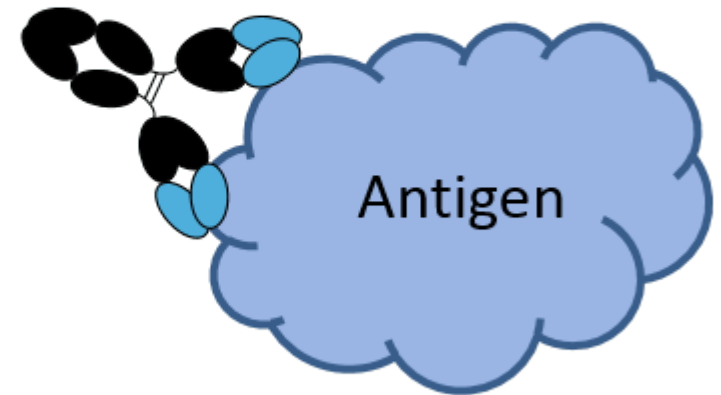
Copyright © 2005 Pearson Education, Inc. Publishing as Pearson Benjamin Cummings. All rights reserved.

Un sol antigen pot presentar diferents epítops, és a dir, pot estimular la producció de diferents anticossos, cadascun dels quals és específic per a un epítop concret. Són anticossos policlonals.

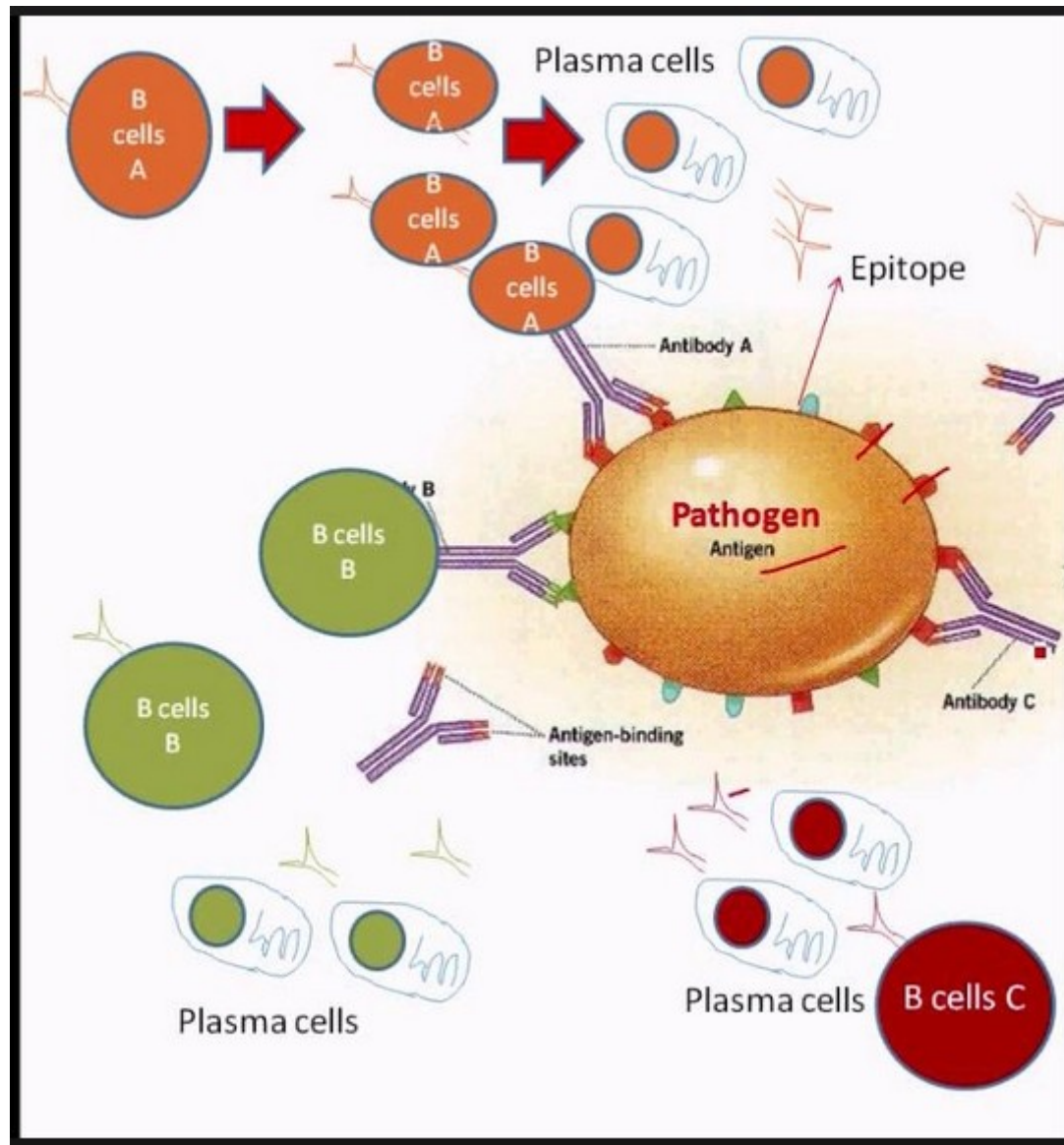
Polyclonal antibody



Monoclonal antibody



Comparació d'anticossos policlonals, que s'uneixen al mateix antígen però a diferents epítops, amb anticossos monoclonals, que s'uneixen tots al mateix epítop.

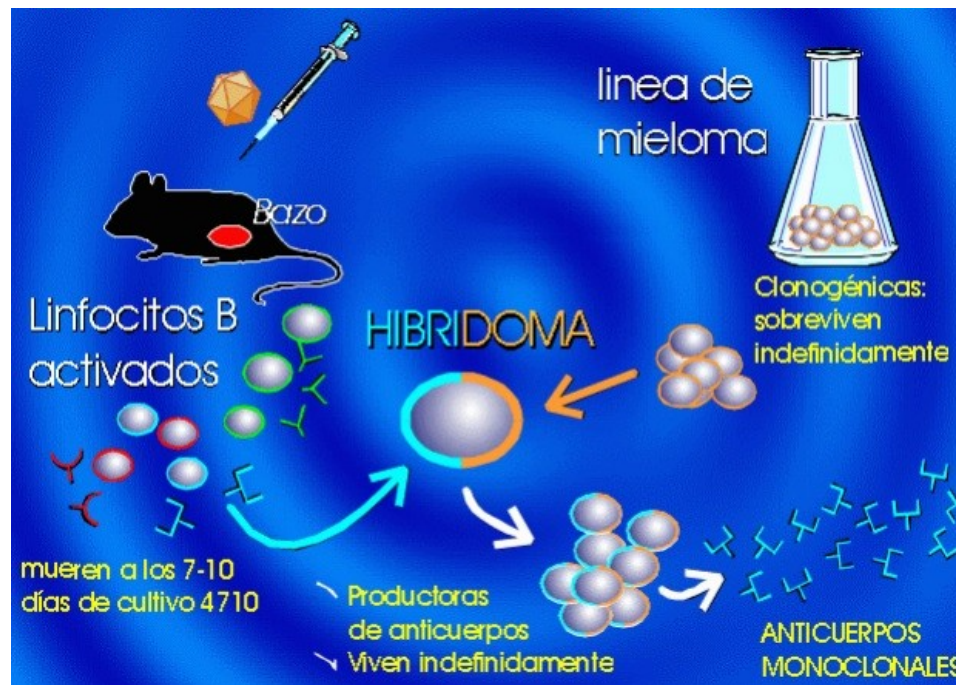


Els **anticossos policlonals** s'obtenen de sèrums d'animals immunitzats per alguna substància (immunògen). Amb la immunització, els limfòcits B activats i diferenciats en cèl·lules plasmàtiques produeixen una barreja d'anticossos derivats de nombrosos clons de limfòcits B. Aquest tipus de resposta s'anomena policlonal i el sèrum de l'animal que conte aquesta barreja d'anticossos **sèrum policlonal**. Són per tant anticossos heterogenis que actuen tots contra el mateix antigen, éssent cadascun d'ells específic per a un epítip diferent.

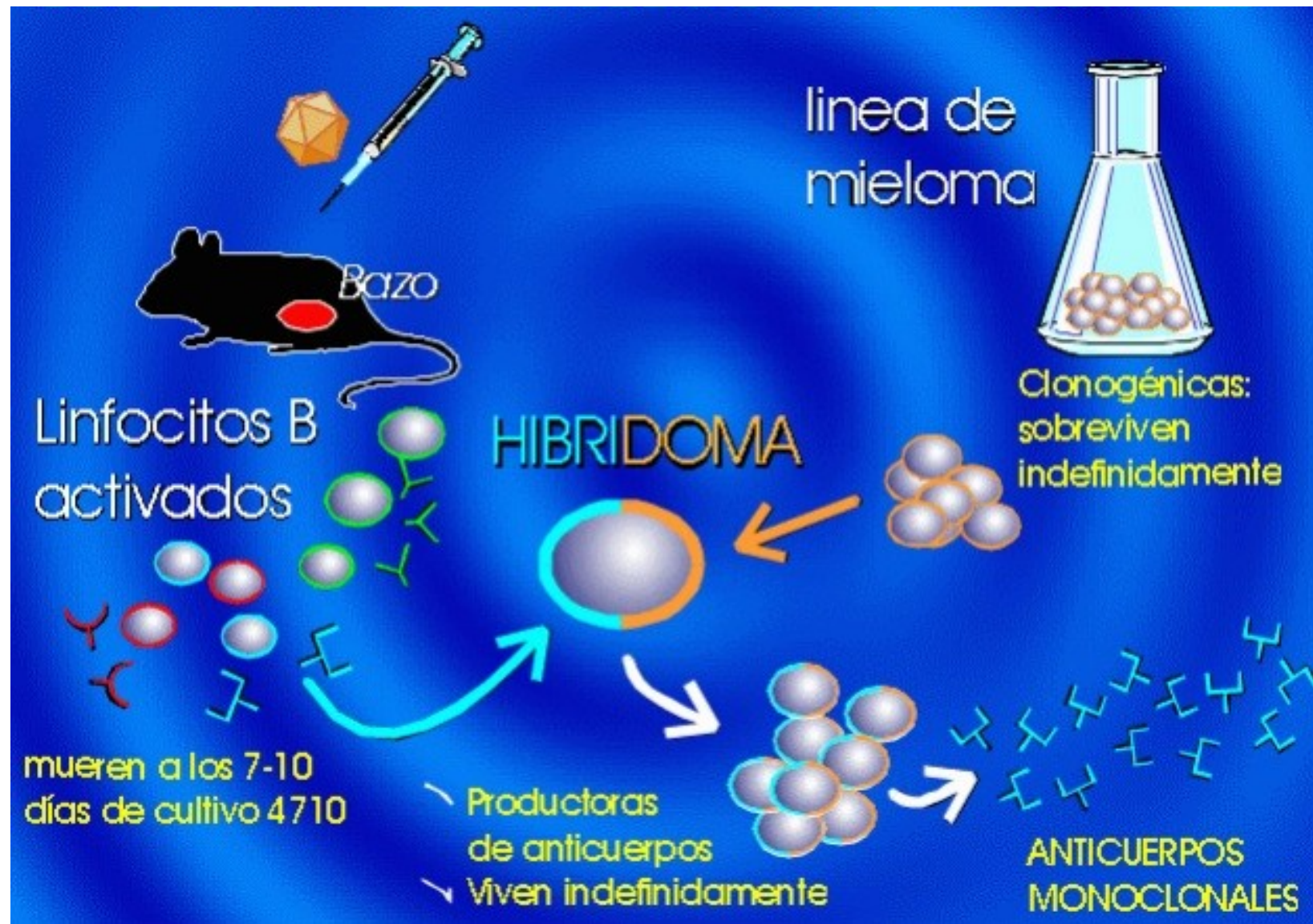
- Els **anticossos monoclonals** han revolucionat la biomedicina, per la seva exquisita especificitat i homogeneïtat.
- Són produïts per una cèl.lula híbrida resultant de la **fusió** d'un **limfòcit B** aïllat d'un animal immunitzat (típicament un ratolí) i d'una **cèl.lula tumoral de ratolí** que es incapaç de produir anticossos. La cèl.lula resultant és una **cèl.lula híbrida o hibridoma** que produeix anticossos d'un sol tipus i es reproduïx constantment.
- Totes les cèl·lules filles resultants tenen la mateixa constitució genètica, és a dir, són clons de la cèl·lula mare, i tots els anticossos produïts són idèntics.

Procés d'obtenció d'anticossos monoclonals murins per la tècnica de l'hibridoma

1. Immunització d'un ratolí amb els antígens contra els que es vol obtenir els anticossos d'interès.
2. Extracció de la melsa del ratolí els limfòcits B activats contra aquest antigen *.
3. Fusió dels limfòcits B amb cèl·lules immortals de mieloma (cèl·lules tumorals immortals de la medul·la òssia). Le cèl·lules híbrides resultants s'anomenen hibridomes.
4. Selecció i cultiu dels hibridomes productors de l'anticòs específic que interessa. Els hibridomes sintetitzen els anticossos.
5. Totes les cèl·lules obtingudes de l'hibridoma seleccionat són clons, amb la qual cosa els anticossos que s'obtinguin són monoclonals.



* aquests limfòcits B cultivats invitro morien al cap de pocs dies de cultiu de tal manera que per poder obtenir una font continua d'anticossos es fusionen amb cèl·lules de mieloma



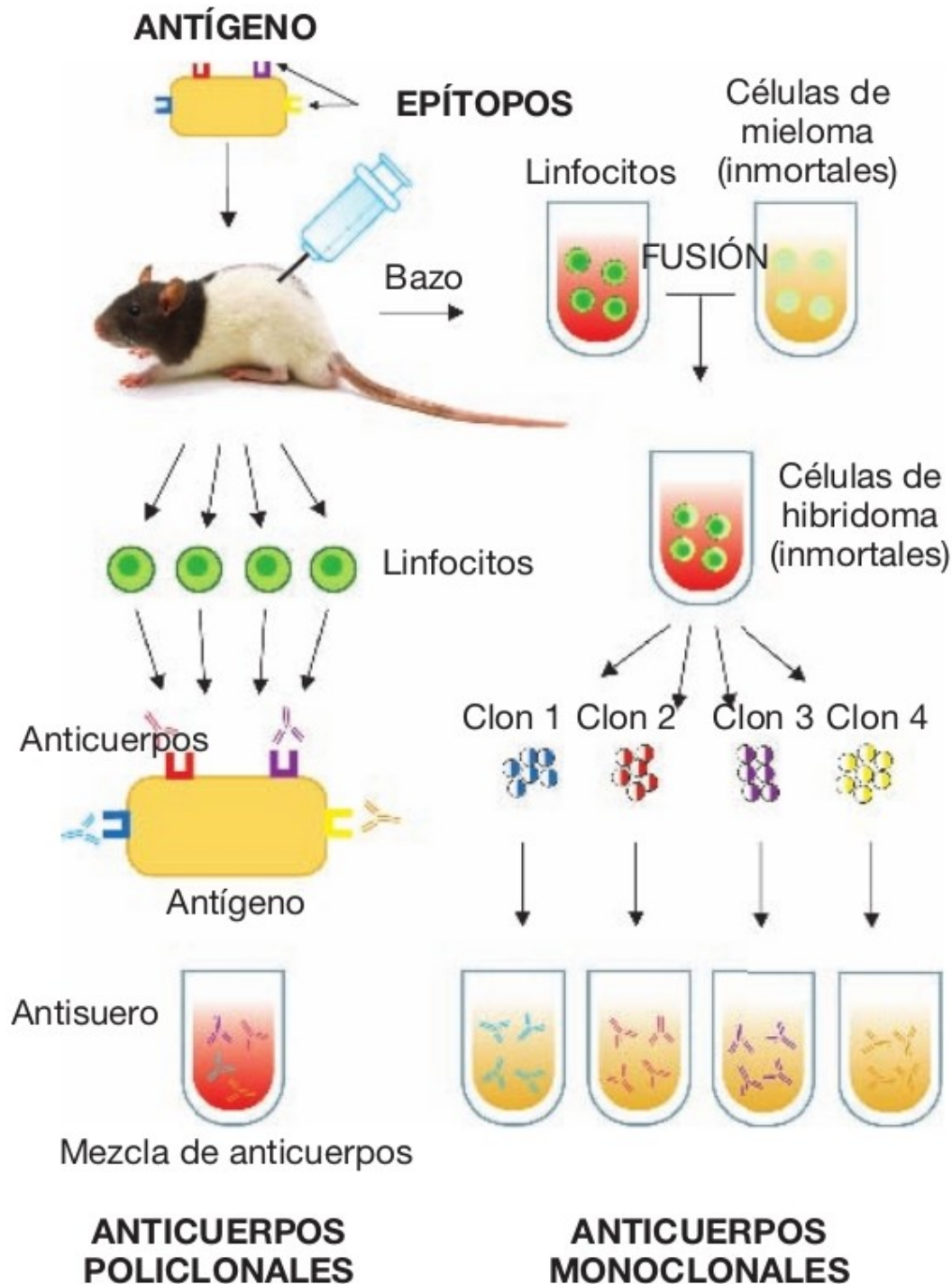
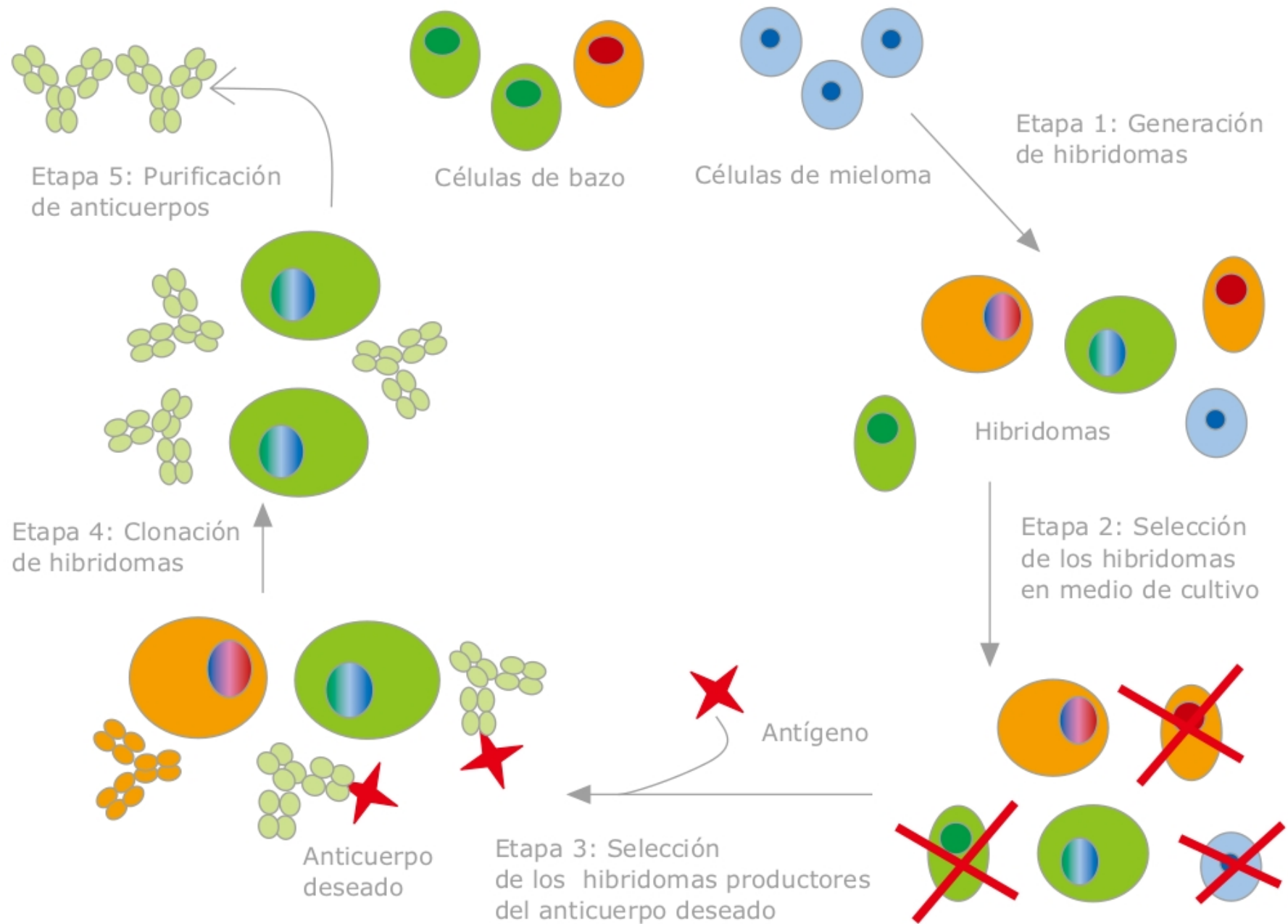
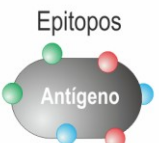
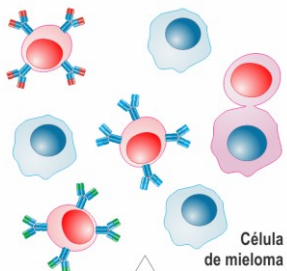
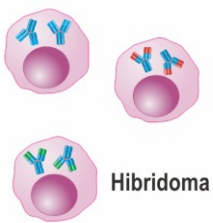
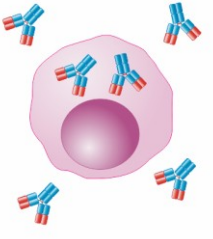
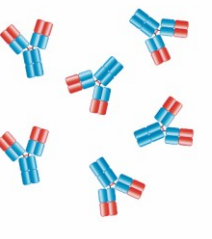
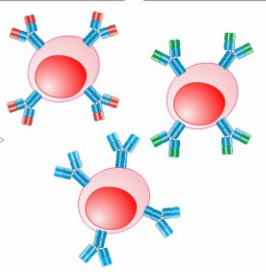
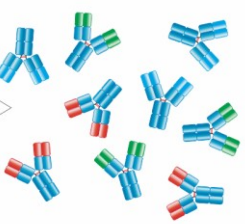
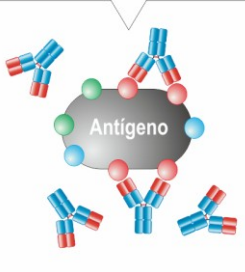


Fig. 19.12. *Proceso de obtención de anticuerpos policlones y monoclonales (Acmos) a partir de ratones inmunizados con un antígeno que contiene varios epítopos. Para obtener anticuerpos policlones, el ratón se inmuniza con pequeñas cantidades del antígeno en varias dosis hasta que se detectan en el suero del animal anticuerpos. Para obtener Acmos se extirpa el bazo (donde residen gran número de linfocitos B específicos de antígeno) de un animal inmunizado con el antígeno, y se aíslan los linfocitos esplénicos. Estos linfocitos se fusionan con células cancerígenas de mieloma, obteniéndose una célula híbrida denominada hibridoma, que es inmortal y produce Acmos. A continuación, este hibridoma se aísla y se coloca en condiciones idóneas para la producción de anticuerpos que pueden purificarse de forma similar a otras proteínas. Mientras que los linfocitos B aislados pueden crecer aislados del animal de origen tan solo unos días, los hibridomas producidos a partir de ellos crecen durante años.*



Producción de anticuerpos. La inmunización de un ratón con un antígeno provoca la activación de un conjunto de clones de linfocitos B capaces de reconocer diversos epítomos del antígeno. El suero del ratón contiene una mezcla de anticuerpos específicos del mismo, y a este reactivo específico (pero policlonal) se le denomina antisuero. Si se quiere obtener un único anticuerpo, procedente de un único clon B hay que seguir con la técnica (ideada por Köhler y Milstein) fusionando los linfocitos B con una línea inmortal B (mieloma) y posteriormente seleccionando los híbridos (hibridomas) por su supervivencia en HPRT (hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa). Este procedimiento se ve en detalle en la animación web. Los anticuerpos policlonales tienen un bajo coste relativo de producción, pero su especificidad y afinidad es variable entre sangrías. Los anticuerpos monoclonales, por el contrario, son mucho más específicos, reaccionan frente a un único epítipo y su rendimiento en cultivo es bajo (mucho mayor en fluido ascítico del animal).

Inmunización	Fusión con células de mieloma	Selección de un clon específico	Hibridoma Seleccionado	Anticuerpo monoclonal	Anticuerpo policlonal (suero)	Anticuerpo monoclonal
 Epítomos Antígeno	 Célula de mieloma	 Hibridoma			Reconoce varios epítomos	Reconoce un único epítipo
			 Antígeno	 Antígeno	Especificidad variable entre animales y entre sangrías	Especificidad muy alta e invariable
					Afinidad variable entre sangrías	Afinidad fija
					Concentración media de 1 mg/ml Volumen variable según especie	Concentración baja en cultivos de hibridomas. Concentración alta (hasta 20 mg/ml) en líquido ascítico
Ratón	Linfocitos B activados	Antisuero policlonal	Reconocimiento de varios epítomos	Reconocimiento de un único epítipo	Coste bajo	Coste alto

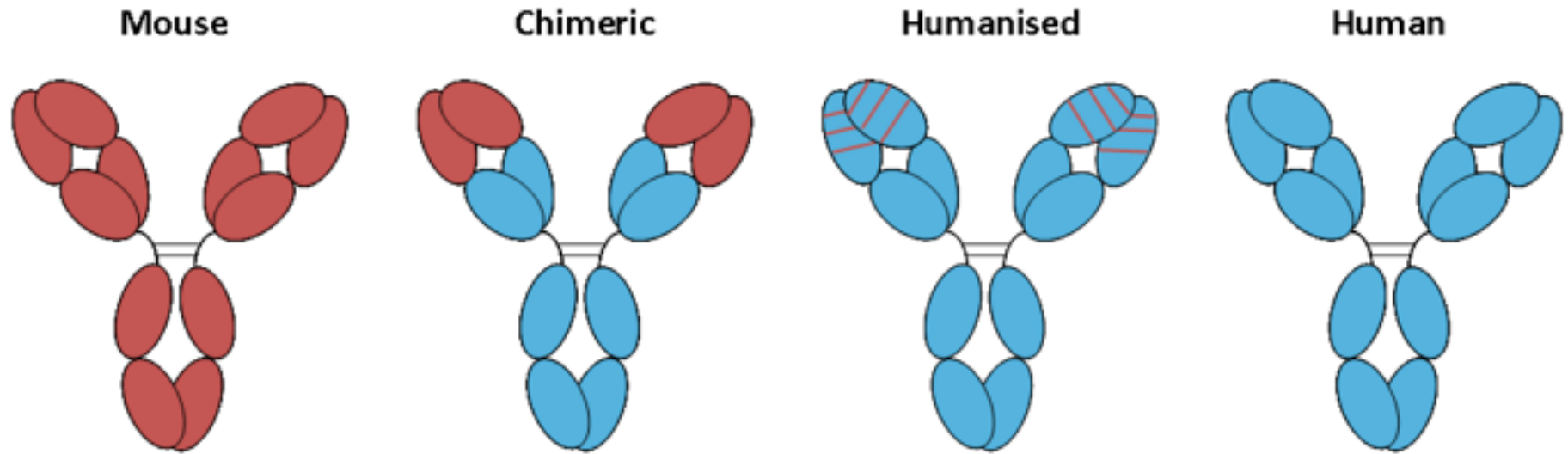


Anticossos monoclonals i enginyeria genètica

- Malauradament, els anticossos monoclonals, són proteïnes d'altres espècies i, per tant, capaces d'induir rebuig en els pacients als quals els són administrats. Això fa que perdin efectivitat.
- Per evitar-ho, s'ha recorregut a l'enginyeria genètica, que consisteix a modificar els gens que codifiquen per als anticossos per tal d'evitar el rebuig substituint part de l'anticòs del ratolí per seqüències humanes: es produeixen així els **anticossos híbrids i els anticossos humanitzats**.
- Una nova estratègia d'enginyeria genètica consisteix en crear **ratolins transgènics**, els gens dels quals per als anticossos s'han substituït pels humans.

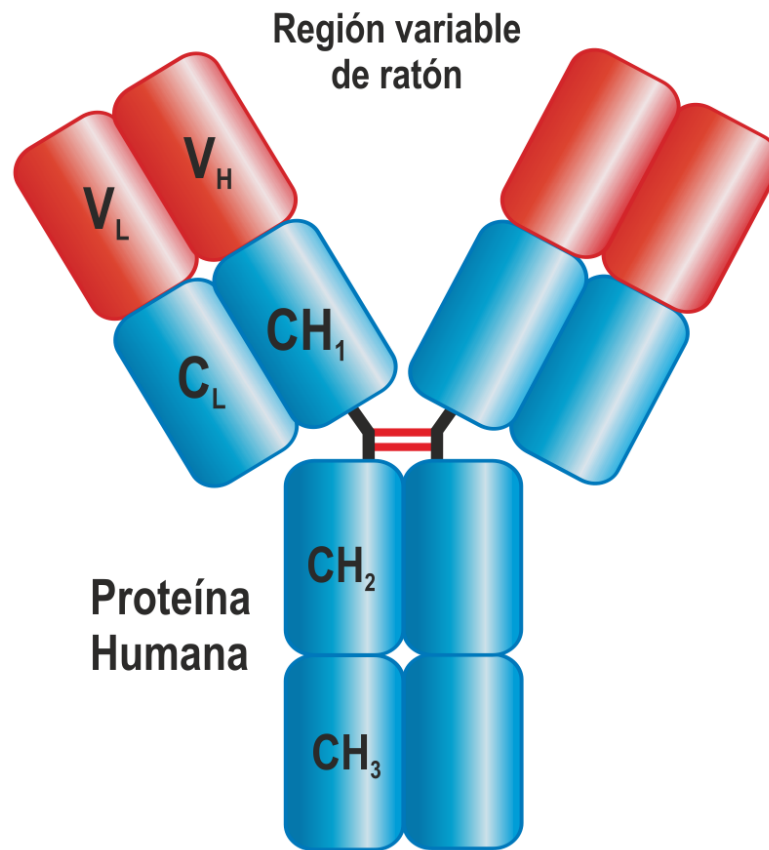
Humanització progressiva dels anticossos monoclonals.

Representació esquemàtica del pas d'anticossos completament de ratolí, representat per dominis vermells, a anticossos completament humans, representat per dominis blaus.

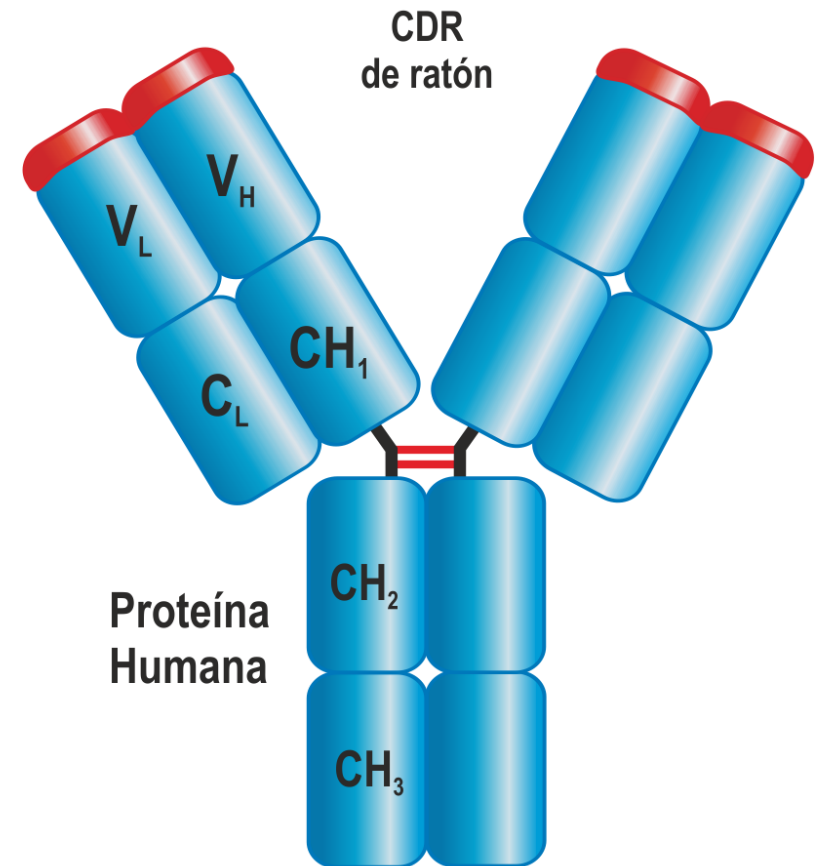


Els anticossos quimèrics tenen la part variable originària del ratolí (30%) i la part constant d'origen humà (70%). Els anticossos humanitzats tenen insertades en la part variable humana les CDR (seqüències determinants de la complementarietat amb l'antigen) de ratolí. D'aquesta manera més del 90% de la seqüència és d'origen humà. Els anticossos humans s'obtenen de ratolins transgènics amb els gens de les Ig (en fase d'investigació).

HUMANIZACIÓN PARCIAL



HUMANIZACIÓN TOTAL



Ingeniería de anticuerpos. Para utilizar anticuerpos monoclonales en terapia no es suficiente con su producción en ratones. Hay que sintetizarlos mediante técnicas de ADN recombinante. Se denominan anticuerpos quiméricos los que contienen los dominios V_H y V_L del anticuerpo monoclonal del ratón y todos los dominios constantes C_L y C_H de un anticuerpo monoclonal humano. Hablamos de anticuerpos humanizados cuando el anticuerpo contiene sólo las CDR (determinantes de la complementariedad con el antígeno) de un anticuerpo monoclonal de ratón injertadas dentro de una secuencia de anticuerpo humano.



Actualment es fan servir anticossos monoclonals en el tractament de diverses patologies de tipus autoimmune, al·lèrgies, alguns tipus de càncer, malalties cardiovasculars, pulmonars, infeccioses i per evitar el rebuig en els trasplantaments d'òrgans.