

## BIOTECNOLOGÍA Y SALUD HUMANA

### La biotecnología en la salud humana: el hito de los anticuerpos monoclonales

José L. Mauriz<sup>1,2</sup>, Raquel Ordoñez<sup>1</sup>, Néstor Prieto-Domínguez<sup>1</sup>, Javier González-Gallego<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Universitario de Biomedicina (IBIOMED) y Departamento de Ciencias Biomédicas, Universidad de León. E-24071. León.

<sup>2</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III. E-28029. Madrid.

La biotecnología está constituyéndose como una disciplina transversal con interés en diversas áreas como la salud humana y animal, el medioambiente, la agroalimentación, la industria o incluso los recursos marinos.

La denominada biotecnología roja es la que se centra en el cuidado de la salud, e intenta mejorar los procedimientos terapéuticos y diagnósticos, implicando para ello al sector farmacéutico, a la investigación biomédica y al conjunto de las tecnologías médicas.

En la biotecnología roja el camino ha sido largo, con gran número de fracasos pero también con muchos éxitos; en este artículo de divulgación nos centraremos brevemente en la historia de la biotecnología roja y profundizaremos en uno de sus mayores éxitos: la producción y modificación de anticuerpos monoclonales murinos, quiméricos, humanizados y humanos, con interés en el tratamiento de enfermedades humanas, y se analizarán sus posibles efectos secundarios.

**Palabras clave:** biotecnología roja, cáncer, inmunidad, salud, aplicación médica, terapia humoral.

#### Enfoque y breve repaso histórico sobre la biotecnología de la salud

El peso de la biotecnología en la sociedad actual se incrementa año a año; así, y a pesar de la crisis económica actual, la facturación de las compañías biotecnológicas españolas superó los 60.000 millones de euros en 2010 (con un incremento del 11% respecto al año anterior), suponiendo el 5,73% del total del PIB español (Biotecnología y Biomedicina, 2013).

La biotecnología clásica utiliza los sistemas biológicos y a los organismos vivos para la obtención de bienes y servicios. En los últimos años, con la aparición de nuevas tecnologías y avances científicos, la biotecnología ha

Forma de mencionar este artículo: Mauriz, J.L. Ordoñez, R., Priego-Domínguez, N., González-Gallego, J., 2014, La Biotecnología en la salud humana: el hito de los anticuerpos monoclonales. AmbioCiencias, 12,12-33. Revista de divulgación científica editada por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León, ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

ampliado su área de influencia. La biotecnología no es en sí una ciencia, ya que utiliza un enfoque multidisciplinar para intentar abordar desafíos en diversas áreas de interés para el ser humano y el medioambiente. Así, la biotecnología utiliza transversalmente conocimientos y herramientas de diversas ciencias y disciplinas como la biología, la bioquímica, la inmunología, la ingeniería genética, la fisiología, la ingeniería química, la microbiología, la física, la nutrición, la farmacia, la medicina, la veterinaria, etc, y ofrece nuevas perspectivas a todas ellas. El biotecnólogo se apoya y complementa a los diversos profesionales de todas estas disciplinas (médicos, biólogos, farmacéuticos, etc), debiendo ser en todo momento su relación directa y bidireccional, lo que redundará en mayores beneficios para la sociedad. En lo que respecta a los temas de salud, las áreas de actuación de la biotecnología se suelen centrar en aplicaciones diagnósticas y terapéuticas tanto en salud humana como animal, así como el desarrollo de alimentos funcionales y nutracéuticos. Podemos destacar dentro de este campo la investigación en nuevos abordajes terapéuticos (terapia celular, terapia génica, ingeniería de tejidos), la producción de proteínas recombinantes o de vacunas para el tratamiento de enfermedades, las nuevas estrategias diagnósticas, etc. Esta área, denominada genéricamente *biotecnología roja*, engloba diversos sectores y disciplinas como el sector farmacéutico o la investigación biomédica y de tecnologías médicas.

En este sentido, fueron muy importantes los trabajos pioneros relacionados con los procesos de inmunización de E. Jenner y L. Pasteur (primeras nociones de vacunas y sus aplicaciones); en 1919 Károly Ereky, acuñó el término biotecnología definiéndolo como “*todos los métodos utilizados para convertir materia prima en bienes y servicios para la comunidad, utilizando en alguna etapa organismos vivos o sus productos*” (Ereky, 1919).

Entre otros hitos importantes en el campo de la biotecnología roja se encuentra el descubrimiento de la penicilina por Fleming (1928), investigaciones básicas como las de Griffith (1928), Watson y Crick (1953), el desciframiento del código genético (1958-61), o el descubrimiento de los plásmidos y el desarrollo de técnicas del ADN recombinante (enzimas de restricción, secuenciación, PCR, y otras). En la década de los 70 se ponen a punto las tecnologías de los hibridomas, permitiendo de esta manera la producción de anticuerpos monoclonales (1975) y otros factores recombinantes como la somatotropina (1977) o la comercialización de la insulina recombinante humana (1982). En el año 2001 se publica el borrador de la secuencia del genoma humano (2001) y la identificación de más de 200 genes implicados en la diferenciación de

células madre, lo que facilitará el desarrollo de nuevos productos biotecnológicos como el diseño y producción del primer anticuerpo murino humanizado (*bevacizumab*).

Como queda plasmado, la biotecnología médica (roja) aplicada a la salud busca nuevos tratamientos para un gran número de patologías, usando tecnologías basadas en anticuerpos monoclonales, péptidos, silenciamiento de genes, etc. (Espiritu et al., 2014).

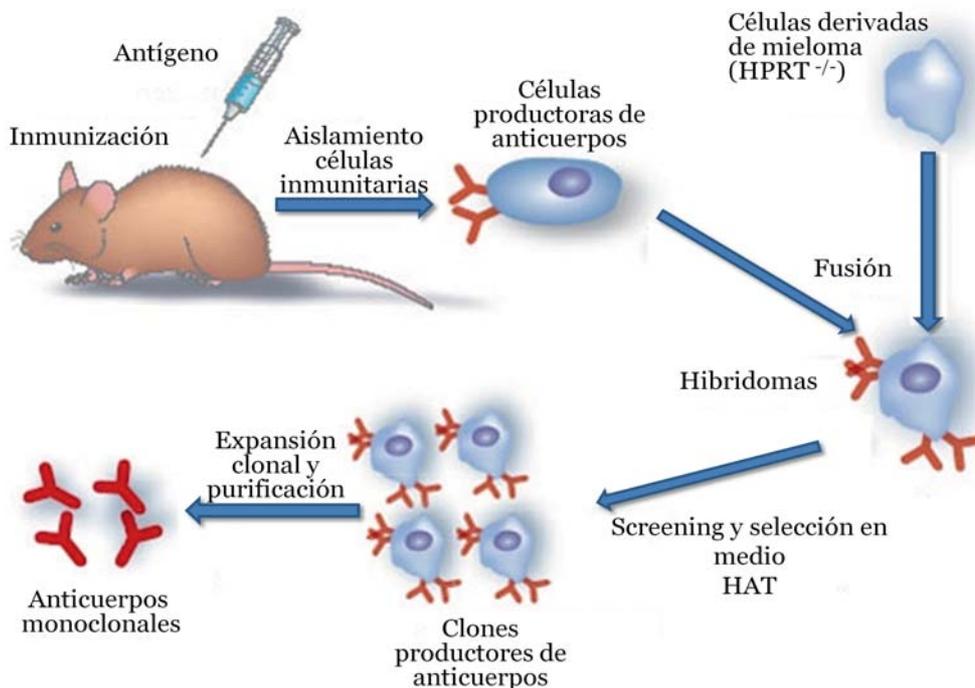
### **Anticuerpos monoclonales de interés en salud humana: un gran éxito de la biotecnología**

Sería tedioso el analizar cada uno de los hitos y avances que la biotecnología ha proporcionado a la salud humana. Por ello, a partir de ahora nos centraremos en este artículo en uno de los mayores éxitos de la biotecnología: la puesta a punto de anticuerpos monoclonales y su modificación para el tratamiento de patologías humanas, analizando cuáles son actualmente las principales enfermedades que pueden beneficiarse de su uso e indicando sus características básicas.

#### Producción y modificación de anticuerpos monoclonales de interés en salud humana

En relación con la producción de anticuerpos un hito importante en biotecnología lo constituyó la puesta a punto de la tecnología de los hibridomas, que permite la obtención de anticuerpos monoclonales, de gran pureza y capaces de reconocer y unirse a un epítipo concreto de un antígeno específico. Así, tras la inmunización de un ratón con el antígeno de interés, se extraen las células B (productoras de anticuerpos) y se fusionan con células tumorales derivadas de mieloma (hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferasa negativas, HPRT-/-), con el objeto de impedir la muerte de las primeras (que soportan pocos días en cultivo). Posteriormente, se hace un “screening” y selección de clones en un medio conteniendo HAT (hipoxantina, aminopterina y timidina) en el que solo crecerán los hibridomas; finalmente se lleva a cabo la expansión del clon de mayor interés y la purificación de los anticuerpos (Köhler y Milstein, 1975) (**Fig. 1**).

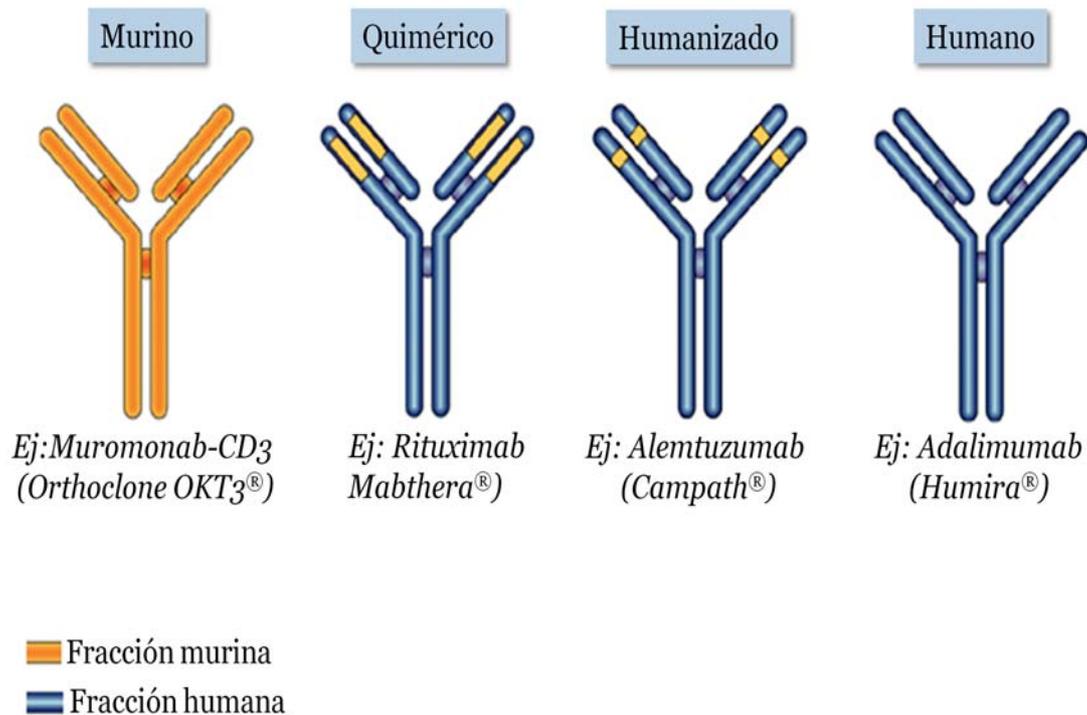
En los últimos años, los anticuerpos monoclonales constituyen un elemento fundamental en la investigación biomédica en campos tan dispares como la detección de proteínas o la inhibición de dianas terapéuticas en el tratamiento de diversas patologías como el cáncer, la artritis, el rechazo a órganos trasplantados, la psoriasis, el asma, etc. (Banerjee, 2010). En el campo del diagnóstico han mejorado técnicas como el ELISA, pruebas de embarazo, test para la detección de la diabetes, presencia de antibióticos en la leche, etc.



**Figura 1.** Obtención de anticuerpos monoclonales a partir de hibridomas (Modificado de Michnick y Sidhu, 2008).

Desde la irrupción de los anticuerpos monoclonales se ha tratado de sacar provecho de los mismos en el campo de la biomedicina. El primer anticuerpo monoclonal autorizado en humanos fue el denominado muromonab-CD3, cuya diana eran los antígenos CD3 de los linfocitos T y que se usó en el tratamiento del rechazo en el trasplante de riñón. Sin embargo, el uso de anticuerpos de origen murino hacía que muchos pacientes desarrollaran una respuesta de anticuerpos humanos anti-inmunoglobulinas murinas (HAMA, *Human Anti-Murine Antibodies*), produciéndose efectos adversos graves como nefrotoxicidad o reacciones anafilácticas, además de contar con una corta vida media en plasma (Genoma España, 2008).

Para evitar los efectos adversos de los anticuerpos monoclonales murinos, se han construido anticuerpos monoclonales (i) quiméricos, (ii) humanizados y (iii) completamente humanos, mediante técnicas de ingeniería genética. Los quiméricos conservan solo secuencias murinas en las regiones variables del anticuerpo, los humanizados poseen aproximadamente un 90% de la secuencia humana, y los completamente humanos el 100% (Kim et al., 2005; Brekke y Sandlie, 2003) (**Fig. 2**).



**Figura 2.** Tipos de anticuerpos monoclonales con interés en terapéutica humana (Modificado de Brekke y Sandlie, 2003 y de Casanova-Estruch, 2013).

Mientras que la producción de anticuerpos monoclonales murinos mediante hibridomas es relativamente sencilla, la producción de anticuerpos monoclonales humanos es muy compleja y presenta baja productividad. Así, ha sido necesario poner a punto otros métodos más complejos para la producción de anticuerpos humanos como las tecnologías Phage-Display o Ribosome-Display, la construcción de hibridomas humanos, la expresión en *Escherichia coli* y en eucariotas de las construcciones, el desarrollo de ratones transgénicos que expresen los genes de las inmunoglobulinas humanas, el uso de librerías de anticuerpos, o incluso la obtención de plantas transgénicas como variedades del maíz, tabaco, arroz, *Arabidopsis thaliana* o *Lemna minor* (Smith et al., 2005; Genoma España, 2008; Fox, 2006; Brekkey Sandlie, 2003).

También se han usado diversas técnicas de modificación para optimizar anticuerpos monoclonales mejorando sus capacidades terapéuticas y su potencial uso en el diagnóstico de patologías. Algunas de ellas quedan resumidas en la **Tabla 1**.

**Tabla 1.** Modificaciones para la optimización de anticuerpos monoclonales de interés para su uso terapéutico y diagnóstico (modificado de Ducancel y Muller, 2014).

Tipo de modificación	Interés terapéutico	Interés diagnóstico
Modificación de la inmunogenicidad	+	-
Mejora de la afinidad y/o especificidad por el antígeno	+	+
Mejora de la afinidad y/o especificidad por el receptor Fc $\gamma$ R	+	-
Incremento de la solubilidad	+	+
Incremento de la estabilidad y la vida media en suero	+	+(principalmente en técnicas de imagen)
Modificaciones propiedades bioquímicas (glicosidación, punto isoeléctrico, etc.)	+	+
Marcaje	-	+++

Anticuerpos monoclonales en el tratamiento del cáncer

Posiblemente, los mejores resultados clínicos del uso de anticuerpos producidos biotecnológicamente se han alcanzado en el tratamiento del cáncer. Cualquier científico o médico interesado por la fisiopatología y el tratamiento de esta patología se encuentra con una gran dificultad dado que el cáncer es realmente un conjunto de más de 120 enfermedades diferentes. No obstante, la mayoría de los cánceres se caracterizan por un incremento en la proliferación celular, incremento en la formación de vasos sanguíneos, que favorecen un mayor aporte de nutrientes y oxígeno a las células tumorales y que permite su salida hacia otros tejidos (metástasis), reducción en la apoptosis, inflamación, etc.

Gracias a las herramientas biotecnológicas se han diseñado diferentes estrategias contra el cáncer que utilizan este tipo de anticuerpos monoclonales como:

- Inhibidores de la proliferación de células tumorales, para ello se pueden bloquear los factores de crecimiento: como el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF) o a sus correspondientes receptores (VEGFR, EGFR, Her, etc), bloqueando las señales de inducción de la proliferación de las células tumorales (inhibiendo su división) y de las células endoteliales de los vasos sanguíneos más próximos al tumor (inhibiendo la angiogénesis o formación de nuevos vasos sanguíneos

- a partir de otros pre-existentes, impidiendo la llegada de oxígeno y la salida de las células tumorales para la formación de metástasis) (Mauriz et al., 2003; Mauriz y González-Gallego, 2008; Carbajo-Pescador et al., 2013). Algunos de estos ejemplos son los anticuerpos (i) humanizados bevacizumab, anti-VEGF indicado para el tratamiento de carcinomas metastásicos de colon, recto o mama, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer renal avanzado/metastásico, etc. y trastuzumab con acción anti-HER2 y utilizado en pacientes con cáncer de mama precoz o metastásico y cáncer gástrico metastásico; (ii) el humano panitumumab, anti-EGFR en carcinoma colorrectal metastásico o (iii) el quimérico cetuximab, anti-EGFR con interés para el tratamiento de cáncer colorrectal o cáncer de células escamosas de cabeza y cuello (Kirkwood et al., 2012).
- Marcadores de células tumorales para facilitar su detección y posterior destrucción por el sistema inmune; para ello se usan anticuerpos monoclonales que se unen a antígenos solo presentes en las células tumorales (Kirkwood et al., 2012). Un ejemplo es el anticuerpo quimérico rituximab, que se une a la proteína CD20 sobre-expresada en células B a lo largo de su diferenciación, estando indicado para el tratamiento de linfoma no Hodgkin y de la leucemia linfocítica crónica (Fowler, 2010).
  - Radioinmunoterapia y diagnóstico, mediante la unión de moléculas radiactivas a los anticuerpos monoclonales específicos contra antígenos que se expresan solo en las células tumorales. Esto permite realizar diagnóstico *in vivo* (observando dónde se acumula la radioactividad en el organismo del paciente), en biopsias (usando fragmentos de tejido provenientes del paciente) o terapia (induciendo la destrucción de las células tumorales por la radiación administrada). Ejemplos de anticuerpos monoclonales en radioinmunoterapia son los anticuerpos murinos ibritumomab-tiuxetan y tositumomab, ambos específicos de CD20 y que presentan interés para el tratamiento de linfomas no Hodgkin (Kitson et al., 2013).
  - Transportadores de otros medicamentos más potentes, por conjugación de anticuerpos monoclonales con moléculas citotóxicas. Así, cuando el anticuerpo se une a la célula tumoral, el componente citotóxico entra en el interior de dicha célula e induce su muerte. Un ejemplo es el anticuerpo quimérico brentuximab-vedotin, un anticuerpo anti-CD30 que está unido de forma covalente a un agente inhibidor de microtúbulos denominado monometil auristatina E (MMAE) que se utiliza para el tratamiento del linfoma anaplásico de células grandes (Cao et al., 2013). Otro ejemplo es

Mylotarg®, en el que se conjuga el anticuerpo monoclonal humanizado gemtuzumab (anti-CD33) con la molécula citotóxica ozogamicina, que puede tener utilidad en el tratamiento de leucemia mieloide aguda (Kharfan-Dabaja, 2014).

### Anticuerpos monoclonales en el tratamiento de enfermedades autoinmunes

Además de su uso en terapia del cáncer, el uso de anticuerpos monoclonales tiene interés para combatir algunas enfermedades autoinmunes originadas por una desequilibrada respuesta del sistema inmune contra los tejidos sanos del propio paciente. Estas enfermedades son variadas y su tratamiento a día de hoy bastante complicado, lo que ha llevado al desarrollo de anticuerpos que pueden ser de utilidad.

- En el caso de la artritis reumatoide, enfermedad crónica que ocasiona la inflamación de las articulaciones, tejidos circundantes y de otros órganos, se han diseñado anticuerpos contra el antígeno CD20 de los linfocitos B (concretamente el quimérico rituximab) y contra el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa; el humano adalimumab y el quimérico infliximab), bloqueando sus efectos inflamatorios (Smolen et al., 2014). Además, se está investigando con anticuerpos contra otras moléculas moduladoras de la respuesta autoinmune como CD3, citoquinas (como las interleuquinas IL-1, IL-12, IL-15, IL-23) y desarrollando nuevos anticuerpos, fragmentos de anticuerpos y aptámeros conjugados con polietilenglicol (Alghasham y Rasheed, 2014; Pasut, 2014).
- En la psoriasis, enfermedad también capaz de inducir artritis (artritis psoriásica), además de los anti-TNF-alfa ya indicados se ha usado un anticuerpo humanizado anti-CD11 denominado efalizumab, que se ha retirado en varios países (entre ellos España) por inducir en algunos casos encefalopatía. En la actualidad se están desarrollando otros tratamientos también basados en anticuerpos, como ustekinumab, anticuerpo humano dirigido contra la proteína P40 de las interleuquinas IL-12 e IL-23 (Piaserico, 2014). Para el tratamiento de la artritis psoriásica, de forma similar a lo que se hace con la artritis reumatoide, se usan los ya mencionados anti-TNF-alfa como adalimumab o infliximab, y se están desarrollando nuevos anticuerpos contra otras dianas como las citoquinas IL-12 e IL-15 (Genoma España, 2008).
- En el caso de la enfermedad de Crohn, enfermedad autoinmune que provoca la inflamación crónica del intestino, se han usado diversos anticuerpos anti-

- TNF-alfa monoclonales (el humano adalimumab, y el quimérico infliximab), anticuerpos anti-integrinas alfa4-beta7 o alfa4-beta1 de la superficie leucocitaria como el humanizado vedolizumab o el humano natalizumab y anticuerpos anti-P40 de las interleuquinas IL-12 e IL-23 como el humano ustekinumab. No obstante, en la actualidad se están intentando desarrollar anticuerpos contra CD3, CD19, CD20 o CD22 (Hutfless et al., 2014).
- La esclerosis múltiple es una enfermedad debilitadora en la que el sistema inmune destruye la mielina afectando a la comunicación en el sistema nervioso central y en otras partes del cuerpo; por ahora no cuenta con un tratamiento efectivo y se conforma con el control de los síntomas. En esta enfermedad se está usando el ya citado anticuerpo humano natalizumab, se ha autorizado en Europa el uso de otros como el anti-CD52 humanizado denominado alemtuzumab y se está estudiando el uso del humanizado anti-CD25 daclizumab (Sorensen, 2014; Giovannoni et al., 2014).

#### Anticuerpos monoclonales en el tratamiento de enfermedades pulmonares

Los anticuerpos monoclonales también tienen potencial interés en el tratamiento de algunas enfermedades pulmonares, como el asma alérgica, y en la profilaxis de otras como las causadas por el virus respiratorio sincitial (RSV).

En el asma alérgica se produce un incremento en la producción de inmunoglobulinas IgE por parte del sistema inmune en respuesta a la presencia de alérgenos, lo que lleva a la inflamación de las vías aéreas. Por el momento, ha salido al mercado el anticuerpo monoclonal humano omalizumab, el cual es capaz de unirse a la IgE reduciendo su niveles en plasma e impidiendo la unión con sus receptores; además es capaz de reducir la expresión de su receptor FCεRI en mastocitos y basófilos (Kupczyk y Kuna, 2014). En esta patología, también se están estudiando otros anticuerpos monoclonales anti-leuquinas IL-4, IL-9, IL-13 (Genoma España, 2008).

El uso de anticuerpos monoclonales frente RSV, patología viral que afecta a neonatos y niños ocasionando infecciones respiratorias graves, se inició con el uso del anticuerpo humanizado palivizumab cuya diana es el antígeno A de la proteína de fusión F, implicada en la entrada del RSV en el hospedador. Una segunda generación de anticuerpos derivados del anterior generó el motavizumab, 20 veces más potente que el anterior y que permite la administración de dosis más bajas (Turner et al., 2014).

### Anticuerpos monoclonales en el tratamiento de enfermedades víricas

En las últimas décadas la aparición de nuevas enfermedades de origen vírico ha promovido el uso de anticuerpos que impidan la proliferación de los virus en los pacientes. Tal como hemos indicado anteriormente, hasta la fecha los mejores resultados se han obtenido con palivizumab y motavizumab para el tratamiento del RSV. Sin embargo, se ha estado investigando la generación y aplicación de nuevos anticuerpos contra otros virus como el de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1), el virus del Ébola (EBOV), o el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV). Incluso se ha llegado a describir un nuevo tipo de anticuerpos monoclonales denominado anticuerpos neutralizantes de amplio espectro (“bnAbs”), capaces de neutralizar un gran espectro de variantes genéticas de un virus determinado (Zhu et al., 2013).

- El síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida (SIDA), debido a la infección con HIV-1, se caracteriza por el debilitamiento del sistema inmunitario del paciente, con una reducción en los linfocitos T CD4, haciendo al paciente más vulnerable a infecciones e incluso a tumores potencialmente mortales. En la actualidad no existe tratamiento totalmente efectivo ni vacuna contra esta enfermedad, por lo que el uso de anticuerpos presenta mucho interés. Ya en los años 90 se describieron 4 tipos de “bnAbs” contra el HIV-1 denominados 2G12, b12, 2F5 y 4E10, donde los dos primeros reconocían epítomos en la glicoproteína de la envoltura viral gp120, y los dos últimos reconocían epítomos en la glicoproteína gp41. Además, muchos anticuerpos monoclonales, con cierta capacidad de neutralización, fueron posteriormente aislados de pacientes o producidos sintéticamente, incluyendo anticuerpos contra CD4 para evitar la unión del virus (como los denominados F105, b13, m14, m18, VRC01 o VRC02) y contra epítomos inducidos por CD4i (como los anticuerpos 17b, 48d, 47e, E51, 412d o X5); sin embargo, los resultados terapéuticos no han resultado satisfactorios (Zhu et al., 2013). En los últimos años, mediante diversas técnicas, como la citometría de flujo y la ultra-secuenciación, se han aislado y analizado un gran número de anticuerpos frente a marcadores gp120 y CD4 provenientes de pacientes que permitirán en un futuro la generación, mediante técnicas de ingeniería genética, de algún anticuerpo con potencial utilidad clínica para el tratamiento y la prevención del SIDA (Prabakaran et al., 2012; Chen et al., 2012). No obstante, en el caso del HIV-1 parece más útil el diseño de pequeños dominios de anticuerpos (eAds, del inglés *Engineered antibody domains*), con tamaños de 11-15 kDa,

que el uso de anticuerpos completos. Así, M36 fue el primer eAds sintetizado contra CD4i y parece mostrar una cierta capacidad *in vitro* para neutralizar al HIV-1 (Chen et al., 2008). En la actualidad se está intentando producir nuevos eAds a partir de librerías conteniendo secuencias del dominio variable de cadenas pesadas de anticuerpos de camélidos inmunizados con HIV-1; se logran así los denominados nanoanticuerpos o nanobodies, obteniendo resultados prometedores contra proteínas presentes en la cubierta del virus (Strokappe et al., 2012).

- Recientemente, el EBOV ha encabezado las noticias en todos los medios de comunicación debido al brote aparecido en África occidental, con tasas de mortalidad cercanas al 90%, y para el cual no existe de momento ni tratamiento ni vacuna. EBOV, también conocido como ebolavirus Zaire, pertenece al género *Ebolavirus* junto con otros cuatro serotipos diferentes: ebolavirus Bundibugyo (BDBV), ebolavirus Reston (RESTV), ebolavirus Sudán (SUDV) y ebolavirus Taï Forest (TAFV). Los brotes aparecidos recientemente en África se han asociado principalmente con EBOV y en menor medida con BDBV y SUDV. Por otro lado, RESTV se ha encontrado en Filipinas y China, pudiendo potencialmente infectar a humanos aunque hasta la fecha no se han comunicado casos de enfermedad humana ni muertes. La enfermedad del Ébola cursa con hipertermia, dolor muscular y debilidad, dolor de garganta y cabeza, diarrea, vómitos, erupciones cutáneas, disfunción hepática y renal, disminución de leucocitos y plaquetas, hemorragias, coagulación intravascular diseminada, hipotensión arterial, etc (WHO, 2014). Hasta la fecha se han obtenido diversos anticuerpos monoclonales contra las glicoproteínas GP1 y GP2 de la envoltura que recubre la cápsida del EBOV con resultados diversos; así, el anticuerpo KZ52 neutraliza al virus *in vitro* pero no protege a los primates de la infección (Friedrich et al., 2012), algo que sí parecen lograr los monoclonales humanos ch133 y ch226 (Marzi et al., 2012). Ninguno de los anticuerpos desarrollados ha llegado a testarse en ensayos clínicos (Clinical Trials), pero debido a la gravedad de los brotes de 2014 se ha administrado a algunos pacientes en Estados Unidos, España y África un suero denominado ZMapp que contiene un cocktail de tres anticuerpos monoclonales humanizados que han demostrado buenos resultados en los ensayos preclínicos en simios (Goodman, 2014). ZMapp combina, de manera aún no descrita claramente por motivos comerciales, los anticuerpos más eficientes provenientes de otros dos productos previos denominados MB-003 (compuesto a su vez por los monoclonales 13C6, 13F6

y 6D8, todos ellos dirigidos contra diversos epítomos de glicoproteínas de la envoltura de EBOV) y ZMAb (cuyos monoclonales, también dirigidos contra glicoproteínas de EBOV, aún no han sido publicados) (Pettitt et al., 2013; Qiu et al., 2013). Los resultados obtenidos con ZMapp en los 3 pacientes humanos ensayados no son concluyentes.

En el caso del SARS-CoV, este virus causa el denominado síndrome respiratorio agudo severo, caracterizado por una serie de síntomas poco específicos como hipertermia, problemas respiratorios leves, neumonía e infiltración pulmonar, que puede desembocar en la muerte del paciente (CDC, 2012). Actualmente, se están estudiando “bnAbs” principalmente dirigidos contra las subunidades 1 y 2 (S1 y S2) de glicoproteínas presentes en la cápsida del SARS-CoV. Aunque los resultados todavía no han llegado a la clínica, en la última década se ha realizado un gran esfuerzo investigador que podría desembocar en la generación de vacunas y terapias basadas en algunos de estos anticuerpos (Zhu et al, 2013). Así, podríamos destacar la generación de bnAbs denominados 4D4, 1F8 o 5E9 dirigidos contra regiones altamente conservadas de S2 y que han demostrado gran capacidad de neutralización en estudios *in vitro* realizados con muestras provenientes de pacientes infectados con SARS-CoV (Elshabrawy et al., 2012).

#### Anticuerpos monoclonales en el tratamiento del rechazo de trasplantes

España es líder mundial, con 34,6 donantes por millón de habitantes, en la donación y trasplante de órganos (ONT, 2014). Pero no solo es necesario contar con donantes de órganos, es también necesario mejorar en las técnicas quirúrgicas y de rechazo de los trasplantes, debido a que el organismo del receptor reconocerá como extraño el órgano trasplantado, inducirá la respuesta inmune frente al órgano. Las técnicas de inmunosupresión o inmunomodulación atenuan la respuesta inmune mediante el uso de diversas moléculas, entre ellas anticuerpos monoclonales que pueden reconocer específicamente receptores de membrana presentes en los linfocitos implicados en dicha respuesta (Genoma España, 2008). Muromonab-CD3, cuya diana es el antígeno CD3 de los linfocitos T, fue el primer anticuerpo monoclonal usado en humanos y fue autorizado en su momento para evitar el rechazo en el trasplante de riñón (Webster et al., 2006). Posteriormente se autorizaron el monoclonal humanizado daclizumab y el quimérico basiliximab, ambos dirigidos contra la cadena alfa del receptor IL-2 de los linfocitos T activados, indicado el primero contra el rechazo del trasplante hepático y el segundo contra el rechazo renal

(Campara et al., 2010). El monoclonal humanizado alemtuzumab reconoce la proteína CD52 presente en la superficie de los linfocitos T y ha demostrado su efectividad anti rechazo en el trasplante renal, de médula ósea y de pulmón (Sidaway, en prensa; Scheffert y Raza, 2014).

La lucha contra el rechazo en los trasplantes ha llevado incluso a autorizar algunos fármacos huérfanos (aquellos que pueden llegar a ser útiles en el tratamiento de enfermedades raras y que por las condiciones del mercado no tienen interés para la industria farmacéutica). Así, en marzo de 2013 la Agencia Europea del Medicamento (EMA) inició los trámites de autorización como fármaco huérfano de un anticuerpo monoclonal murino (que aún no ha recibido una denominación pública) y cuya diana es el receptor alfa-beta de los linfocitos T, y que puede ser útil para evitar el rechazo en el trasplante de diversos órganos (EMA, 2013).

### **¿Es oro todo lo que reluce? Efectos adversos de los anticuerpos monoclonales utilizados en terapia**

El gran desarrollo de la biotecnología ha permitido la generación de un amplio número de anticuerpos monoclonales con interés en el tratamiento de enfermedades, con la autorización por las agencias reguladoras de medicamentos, como la americana FDA o la EMA, de más de 30 anticuerpos para su uso en humanos (Beck et al, 2010).

Desde el primer momento los clínicos se han percatado de un buen número de efectos adversos de este tipo de anticuerpos cuando son administrados a humanos. Muchos de los esfuerzos de la investigación básica y de la industria biotecnológica han pasado por la optimización de los anticuerpos monoclonales murinos al transformarlos en anticuerpos totalmente humanos, con objeto de reducir los principales efectos adversos observados en los pacientes. No obstante, este procedimiento no es posible en todos los casos.

Uno de los primeros fenómenos descritos al usar anticuerpos monoclonales murinos en clínica se relacionaba con su alta inmunogenicidad, lo que provocaba la activación del propio sistema inmune del paciente contra los anticuerpos suministrados, provocando incluso reacciones alérgicas graves que podían llegar a ser fatales. La irrupción de los anticuerpos monoclonales quiméricos ha reducido en gran medida la inmunogenicidad y la gravedad de los efectos adversos, pero siguen siendo capaces de inducir la aparición de los denominados anticuerpos humanos anti-anticuerpos quiméricos (HACA) y, por ello, de producir problemas en los pacientes (Li et al., 2014).

Entre los principales efectos adversos observados tras el tratamiento con anticuerpos monoclonales podemos destacar los siguientes:

- Reacciones de hipersensibilidad (HSRs). Suelen aparecer de forma inmediata tras la infusión de los anticuerpos monoclonales. Su mecanismo todavía no está totalmente elucidado, pero probablemente implica a los mastocitos y a vías tanto dependientes como independientes de las inmunoglobulinas (IgE) (Brennan et al., 2009; Li et al., 2014). Las HSRs varían de intensidad y de duración según el paciente y el anticuerpo monoclonal administrado, incluyendo desde una simple reacción, hasta la enfermedad del suero, broncoespasmos o angioedema, pudiendo inducir en los casos más graves la muerte del paciente por anafilaxia (Kleyman y Weintraub, 2012). En el caso de anticuerpos quiméricos como rituximab, se ha observado la aparición de HSRs que cursan además con náuseas, fiebre, hipotensión, dolor de cabeza, angioedema, síntomas respiratorios y reacciones cutáneas severas (Goetsch, 2011; Zebardast et al., 2010). También se han descrito HSRs cuando se utilizan anticuerpos quiméricos como infliximab o basiliximab, humanizados como bevacizumab, e incluso humanos como omalizumab, por lo que están siendo objeto de seguimiento por la FDA (Li et al., 2014). Para evitar estos problemas, se puede tratar al paciente con esteroides antes de la administración del anticuerpo, reducir la velocidad de infusión del mismo o intentar su desensibilización (Hong et al., 2012). No obstante, la mejor opción pasa por incrementar la investigación que permita el diseño de nuevos anticuerpos monoclonales con menor capacidad para inducir HSRs.
- Reacciones cutáneas. La toxicidad cutánea es frecuente en algunas terapias basadas en anticuerpos monoclonales, como por ejemplo las dirigidas contra el receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico (EGFR) que utilizan bien el anticuerpo quimérico cetuximab o el humano panitumumab, interfiriendo con la vía de señalización de crecimiento epidérmico folicular e interfolicular, alterando de esta forma la proliferación, diferenciación, migración y anclaje de los queratinocitos, cursando con picores, dermatitis, prurito, erupciones, etc. (Woodworth et al., 2005; Li et al., 2014). Por otro lado, anticuerpos monoclonales anti-TNF-alfa como el quimérico infliximab o el humano adalimumab, pueden inducir la formación de erupciones de tipo psoriásico. A día de hoy se puede intentar reducir la toxicidad cutánea administrando a los pacientes diversos emolientes y esteroides tópicos, pero los resultados son variables según el individuo, el anticuerpo usado y la enfermedad que se está tratando (Li et al., 2014).

- Infecciones. El tratamiento con anticuerpos monoclonales, principalmente con aquellos cuya diana terapéutica es TNF-alfa, que juega un papel importante en la respuesta inmune, se ha relacionado con cierto nivel de inmunosupresión del paciente. Así, se ha descrito que el tratamiento con infliximab, adalimumab y con otros anti-TNF-alfa incrementa el riesgo de reactivación de tuberculosis, hepatitis B latentes o infección con virus Zoster (Rybar et al., 2008; Pérez-Álvarez, et al., 2011; Shale, 2009). De manera similar, el uso de anticuerpos monoclonales contra CD20, como rituximab en pacientes con linfoma parece producir la reactivación de hepatitis B latentes, e infecciones con citomegalovirus, herpes simples, virus Zoster, etc (Watanabe et al., 2011; Aksoy et al., 2007).
- Tumores. Paradójicamente, a pesar de la gran utilidad del uso de los anticuerpos monoclonales en el tratamiento del cáncer, su empleo se ha relacionado ocasionalmente con la aparición de tumores secundarios. Sin embargo, no queda claro si estos tumores secundarios se forman debido a la enfermedad primaria o como consecuencia al tratamiento con monoclonales. Los datos disponibles indican que el tratamiento con monoclonales anti-TNF-alfa se ha relacionado con un incremento en la aparición de mieloma múltiple o de linfoma no-Hodgkin en pacientes afectados con artritis reumatoide (Setoguchi et al., 2006). En pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal o con enfermedad de Crohn se ha observado una mayor incidencia de linfomas tras tratamientos con infliximab (Williams et al., 2014).
- Otras complicaciones. Con menor frecuencia el uso de algunos monoclonales, principalmente anti-TNF-alfa, se ha relacionado con un incremento en la aparición de enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso, enfermedad pulmonar intersticial o hepatitis autoinmunes (Li et al., 2014). También se han descrito algunos casos de toxicidad en el sistema nervioso (como leucoencefalopatía multifocal progresiva) que se han relacionado con una mayor sensibilidad frente a las infecciones en pacientes tratados con rituximab (Carson et al., 2009). El uso de abciximab, cuya diana principal es la glicoproteína GPIIb/IIIa bloqueando la agregación plaquetaria, se ha relacionado con trombocitopenia e incremento en la probabilidad de hemorragia intracraneal (Ciccione et al., 2014). Finalmente, el tratamiento con monoclonales capaces de bloquear a VEGF, como bevacizumab, puede favorecer la aparición de perforación intestinal e incluso nefropatía (Li et al., 2014).

Por todo ello, está claro que además del trabajo de los científicos para lograr reducir las toxicidades y los efectos secundarios, es necesario que los pacientes objeto de tratamiento con un monoclonal específico sean seleccionados cuidadosamente desde el punto de vista clínico, siendo administrados dichos anticuerpos por personal bien entrenado y en instalaciones hospitalarias preparadas para responder ante cualquier tipo de efecto secundario o reacción no deseada (Casanova-Estruch, 2013).

### **Nuevas perspectivas en el uso y generación de anticuerpos monoclonales con interés en salud humana**

Muchas son las líneas en las que se está trabajando en la actualidad para optimizar y extender el uso de los monoclonales con fines terapéuticos. Una de las estrategias más útiles para la obtención de nuevos anticuerpos sintéticos consistiría en la generación de librerías, permitiendo producir anticuerpos estables, capaces de reconocer diversos antígenos con alta afinidad y especificidad (Adams y Sidhu, 2014). Así, las librerías miméticas naturales intentan recoger la diversidad de anticuerpos naturales mediante la amplificación de los genes que codifican para la región variable de las cadenas pesadas y ligeras de los anticuerpos disponibles (CDRs, regiones determinantes de la complementariedad), para posteriormente modificarlas mediante técnicas de recombinación *in vitro* y obtener una nueva colección de anticuerpos (Bowers et al., 2013).

La modificación del fragmento Fc (fragmento cristalizante de la cadena pesada, responsable de la unión a receptores celulares específicos y a proteínas del complemento) puede favorecer un incremento en la vida media del anticuerpo, y mejorar su capacidad para aumentar tanto la citotoxicidad celular mediada por anticuerpos, como la citotoxicidad dependiente del complemento (Buss et al., 2012).

Otro aspecto de interés en investigación son los anticuerpos monoclonales biespecíficos, esto es, anticuerpos constituidos por múltiples dominios de unión en la misma molécula permitiéndoles interactuar con al menos dos antígenos diferentes, lo que mejora sus propiedades terapéuticas e incluso su farmacocinética (Buss et al., 2012). Los biespecíficos no deben confundirse con los cocktails de anticuerpos, como el ya indicado ZMapp que consiste en soluciones conteniendo diversos anticuerpos. El primer biespecífico aprobado para su uso es el denominado catumaxomab, utilizado para el tratamiento de la ascitis maligna en pacientes con carcinoma positivo para la

molécula de adhesión de células epiteliales humanas (Ep-CAM) (Linke et al., 2010).

La generación de anticuerpos monoclonales conjugados con diversos tipos de drogas también parece una línea prometedora, pero dependerá de la mejora de los sistemas sintéticos de unión (linkers escindibles: disulfuro, hidrazona, péptidos enlazadores; o no escindibles: tioéteres) y su impacto en la eficacia de estos conjugados (Buss et al., 2012).

Para concluir, como ocurre en todos los campos de la biomedicina, no debemos olvidar la importancia de la colaboración entre personal investigador y clínico, algo que en nuestra Universidad de León se está llevando a cabo en centros como el Instituto Universitario de Biomedicina (IBIOMED). Así, deben analizarse profundamente los efectos secundarios observados en los pacientes tras el tratamiento con anticuerpos monoclonales, y estudiar los mecanismos celulares y moleculares, con objeto de evitarlos o reducir su gravedad. Además, el estudio de la fisiopatología y de la clínica de las diversas enfermedades puede arrojar luz sobre las mejores dianas terapéuticas disponibles y sobre la generación de nuevos anticuerpos con utilidad en medicina. No cabe duda que en las próximas décadas el uso de anticuerpos monoclonales y de nuevas técnicas biotecnológicas permitirá vencer enfermedades tanto humanas como animales, mejorando la calidad y esperanza de vida de los individuos.

### **Bibliografía**

- Adams, J.J. y Sidhu, S.S. 2014. Synthetic antibody technologies. *Current Opinion in Structural Biology*. 24:1-9.
- Aksoy, S. et al., 2007. Rituximab-related viral infections in lymphoma patients. *Leukemia & Lymphoma*. 48:1307-1312.
- Alghasham, A. y Rasheed, Z. 2014. Therapeutic targets for rheumatoid arthritis: Progress and promises. *Autoimmunity*. 47:77-94.
- Banerjee, J. 2010. Antibodies are challenged. *Indian Journal of Medical Sciences*. 64:144-147.
- Beck, A. et al., 2010. Strategies and challenges for the next generation of therapeutic antibodies. *Nature Reviews. Immunology*. 10:345-52.
- Biología y Biomedicina. 2013. Informe sectorial. Ayuntamiento de Barcelona, Barcelona, España.
- Bowers, P.M. et al., 2013. Mammalian cell display for the discovery and optimization of antibody therapeutics. *Methods*. 65:44-56.
- Brekke, O.H y Sandlie, I. 2003. Therapeutic antibodies for human diseases at the dawn of the twenty-first century. *Nature Reviews. Drug Discovery*. 2:52-62.
- Brennan, P.J. et al., 2009. Hypersensitivity reactions to mAbs: 105 desensitizations in 23 patients, from evaluation to treatment. *The*

- Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 124:1259-66.
- Buss, N.A. et al., 2012. Monoclonal antibody therapeutics: history and future. *Current Opinion in Pharmacology*. 12: 615-622.
- Campara, M. et al., 2010. Interleukin-2 receptor blockade with humanized monoclonal antibody for solid organ transplantation. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 10:959-969.
- Cao, H. et al., 2013. Brentuximab vedotin: first-line agent for advanced Hodgkin lymphoma. *Anticancer Research*. 33:3879-3885.
- Carbajo-Pescador, S. et al., 2013. Inhibition of VEGF expression through blockade of Hif1 $\alpha$  and STAT3 signalling mediates the anti-angiogenic effect of melatonin in HepG2 liver cancer cells. *British Journal of Cancer*. 109:83-91.
- Carson, K.R. et al., 2009. Monoclonal antibody-associated progressive multifocal leucoencephalopathy in patients treated with rituximab, natalizumab, and efalizumab: a Review from the Research on Adverse Drug Events and Reports (RADAR) Project. *Lancet Oncology*. 10:816-824.
- Casanova-Estruch, B. 2013. Safety profile and practical considerations of monoclonal antibody treatment. *Neurologia*. 28:169-178.
- CDC. 2012. Centers for Disease Control and Prevention. Severe acute respiratory syndrome (SARS). <http://www.cdc.gov/sars/index.html> (acceso: 22/08/2014).
- Chen, W. et al., 2012. Characterization of germline antibody libraries from human umbilical cord blood and selection of monoclonal antibodies to viral envelope glycoproteins: Implications for mechanisms of immune evasion and design of vaccine immunogens. *Biochemical Biophysical Research Communications*. 417:1164-1169.
- Chen, W. et al., 2008. Human domain antibodies to conserved sterically restricted regions on gp120 as exceptionally potent cross-reactive HIV-1 neutralizers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 105:17121-17126.
- Ducancel, F. y Muller, B.H. 2014. Molecular engineering of antibodies for therapeutic and diagnostic purposes. *Monoclonal Antibodies*. 4:445-457.
- Elshabrawy, H.A. et al., 2012. Human monoclonal antibodies against highly conserved HR1 and HR2 domains of the SARS-CoV spike protein are more broadly neutralizing. *PLoS ONE*. 7:e50366.
- EMA. 2013. European Medicines Agency. EU/3/13/1113. [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/orphans/2013/04/human\\_orphan\\_001190.jsp&mid=WCob01ac058001d12](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/orphans/2013/04/human_orphan_001190.jsp&mid=WCob01ac058001d12) (Acceso: 26/08/214).
- Ereky, K. 1919. Biotechnologie der Fleisch-, Fett-, und Milcherzeugung im

- landwirtschaftlichen Grossbetriebe: für naturwissenschaftlich gebildete Landwirte verfasst. Parey, Berlin, Alemania.
- Espiritu, M.J. et al., 2014. A 21st-century approach to age-old problems: the ascension of biologics in clinical therapeutics. *Drug Discovery Today*. pii:S1359-6446(14)00010-5.
- Fowler, N.H. 2011. Role of maintenance rituximab (rituxan) therapy in the treatment of follicular lymphoma. *P & T: A Peer-reviewed Journal for Formulary Management*. 36:590-598.
- Fox, J.L. 2006. Turning plants into protein factories. *Nature Biotechnology*. 24:1191-1193.
- Friedrich, B.M. et al., 2012. Potential vaccines and post-exposure treatments for filovirus infections. *Viruses*. 4:1619-1650.
- Genoma España. 2008. Anticuerpos monoclonales terapéuticos. Informe de Vigilancia Tecnológica. Fundación Española para el Desarrollo de la Investigación en Genómica y Proteómica-Fundación General de la Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España.
- Giovannoni, G. et al., 2014. Daclizumab high-yield process in relapsing-remitting multiple sclerosis (SELECTION): a multicentre, randomised, double-blind extension trial. *Lancet Neurology*. 13:472-481.
- Goetsch, C.M. 2011. Genetic tumor profiling and genetically targeted cancer therapy. *Seminars in Oncology Nursing*. 27:34-44.
- Goodman, J.L. 2014. Studying "secret serums" - Toward safe, effective Ebola treatments. *The New England Journal of Medicine*. 371:1086-1089.
- Hong, D.I. et al., 2012. Allergy to monoclonal antibodies: cutting-edge desensitization methods for cutting-edge therapies. *Expert Review of Clinical Immunology*. 8:43-52.
- Hutfless, S. et al., 2014. Pharmacological management of Crohn's disease: future research needs. Agency for Healthcare Research and Quality, Rockville, Estados Unidos de América.
- Kharfan-Dabaja, M.A. 2014. A new dawn for gemtuzumab ozogamicin? *Lancet Oncology*. 15:913-914.
- Kim, S.J. et al., 2005. Antibody engineering for the development of therapeutic antibodies. *Molecules and Cells*. 20:17-29.
- Kirkwood, J.M. et al., 2012. Immunotherapy of cancer in 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 62:309-335.
- Kitson, S.L. et al., 2013. Radionuclide antibody-conjugates, a targeted therapy towards cancer. *Current Radiopharmaceuticals*. 6:57-71.
- Kleyman, K. y Weintraub, D.S. 2012. Monoclonal antibodies: longitudinal prescribing information analysis of hypersensitivity reactions. *Monoclonal Antibodies*. 4:392-397.
- Köhler, G. y Milstein, C. 1975. Continuous cultures of fused cells secreting

- antibody of predefined specificity. *Nature*. 256:495-497.
- Kupczyk, M. y Kuna, P. 2014. Omalizumab in an allergology clinic: real life experience and future developments. *Postepy Dermatologii Alergologii*. 31:32-35.
- Linke, R. et al., 2010. Catumaxomab: clinical development and future directions. *Monoclonal Antibodies*. 2:129-136.
- Marzi, A., 2012. Protective efficacy of neutralizing monoclonal antibodies in a nonhuman primate model of Ebola hemorrhagic fever. *PLoS ONE*. 7:e36192.
- Mauriz, J.L. y González-Gallego, J. 2008. Antiangiogenic drugs: current knowledge and new approaches to cancer therapy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 97:4129-4154.
- Mauriz, J.L. et al., 2003. Antiangiogenic treatment of cáncer. *Cirugía Española*. 78:3-11.
- Michnick, S.W. y Sidhu, S.S. 2008. Submitting antibodies to binding arbitration. *Nature Chemical Biology*. 4:326-329.
- ONT, 2014. Organización Nacional de Trasplantes. <http://www.ont.es/home/Paginas/ElModeloEspanol.aspx> (acceso: 26/08/2014).
- Pasut, G. 2014. Pegylation of biological molecules and potential benefits: pharmacological properties of certolizumab pegol. *BioDrugs*. 28 Suppl 1:15-23.
- Pérez-Alvarez, R., 2011. Hepatitis B virus (HBV) reactivation in patients receiving tumor necrosis factor (TNF)-targeted therapy: analysis of 257 cases. *Medicine (Baltimore)*. 90:359-371.
- Pettitt, J. et al., 2013. Therapeutic intervention of Ebola virus infection in Rhesus macaques with the MB-003 monoclonal antibody cocktail. *Science Translational Medicine*. 5:199(ra)113.
- Piaserico, S., 2014. Efficacy and safety of systemic treatments for psoriasis in elderly patients. *Acta Dermato-Venereologica*. 94:293-297.
- Prabakaran, P. et al., 2012. Origin, diversity, and maturation of human antiviral antibodies analyzed by high-throughput sequencing. *Frontiers in Microbiology*. 3: 277.
- Qiu, X. et al., 2013. Sustained protection against Ebola virus infection following treatment of infected nonhuman primates with ZMAb. *Scientific Reports*. 3:3365.
- Rybar, I. et al., 2012. The effectiveness for prevention of tuberculosis in patients with inflammatory rheumatic diseases treated with TNF inhibitors. *The International Journal Bratislava Medical Journal – Bratislavske lekarske listy*. 109:164-167.
- Scheffert, J.L. y Raza, K. 2014. Immunosuppression in lung transplantation. *Journal of Thoracic Disease*. 6:1039-1053.

- Setoguchi, S. et al., 2006. Tumor necrosis factor alpha antagonist use and cancer in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism*. 54:2757-2764.
- Shale, M.J. 2009. The implications of anti-tumour necrosis factor therapy for viral infection in patients with inflammatory bowel disease. *British Medical Bulletin*. 92:61-77.
- Sidaway, P. 2014. Transplantation: Alemtuzumab induction reduces acute rejection risk. *Nature Reviews Nephrology*. En Prensa. doi: 10.1038/nrneph.2014.143.
- Smith, J. et al., 2005. Antibody phage display technologies with special reference to angiogenesis. *FASEB Journal*. 19:331-341.
- Smolen, J.S. et al., 2014. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 73:492-509.
- Sorensen, P.S. 2014. New management algorithms in multiple sclerosis. *Current Opinion in Neurology*. 27:246-259.
- Strokappe, N. et al., 2012. Llama antibody fragments recognizing various epitopes of the CD4bs neutralize a broad range of HIV-1 subtypes A, B and C. *PLoS ONE*. 7:e33298.
- Turner, T.L. et al., 2014. Respiratory syncytial virus: current and emerging treatment options. *Journal of ClinicoEconomics and Outcomes Research*. 6:217-225.
- Watanabe, M. et al., 2011. Re-appearance of hepatitis B virus following therapy with rituximab for lymphoma is not rare in Japanese patients with past hepatitis B virus infection. *Liver International*. 31:340-347.
- Webster, A. et al., 2006. Polyclonal and monoclonal antibodies for treating acute rejection episodes in kidney transplant recipients. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2:CD004756.
- WHO. 2014. World Health Organization. Ebola virus disease. <http://www.who.int/csr/disease/ebola/en/> (acceso: 21/08/2014).
- Williams, C.J. et al., 2014. Systematic review with meta-analysis: malignancies with anti-tumour necrosis factor- $\alpha$  therapy in inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 39:447-458.
- Woodworth, C.D. et al., 2005. Inhibition of the epidermal growth factor receptor increases expression of genes that stimulate inflammation, apoptosis, and cell attachment. *Molecular Cancer Therapeutics*. 4:650-665
- Zebardast, N. et al., 2010. Rituximab in the management of refractory myasthenia gravis. *Muscle & Nerve*. 41:375-378.
- Zhu, Z. et al., 2013. Human monoclonal antibodies as candidate therapeutics against emerging viruses and HIV-1. *Virologica Sinica*. 28:71-80.



**José Luis Mauriz**, es Doctor en Ciencias Biológicas y Profesor Titular del Departamento de Ciencias Biomédicas de la Universidad de León. Docente en los Grados de Biotecnología, Biología y Veterinaria y en diversos Másteres oficiales. Es coordinador del Máster Universitario de Investigación en Medicina. Investigador del Instituto Universitario de Biomedicina (IBIOMED) de la Universidad de León, del Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd) del Instituto de Salud Carlos III y del Grupo de Investigación de Excelencia GR17 de la Junta de Castilla y León. Su investigación se centra en la fisiopatología de tumores hepáticos y digestivos.



**Raquel Ordóñez**, es Licenciada en Ciencias Biológicas, Máster en Innovación en Ciencias Biomédicas y de la Salud, y Doctoranda del Programa de Biomedicina de la Universidad de León. En la actualidad su trabajo sobre tumores hepáticos está financiado por el Ministerio de Educación a través del Programa de Formación de Profesorado Universitario (FPU).



**Néstor Prieto-Domínguez** es Graduado en Biotecnología, Máster en Innovación en Ciencias Biomédicas y de la Salud, y Doctorando del Programa de Biomedicina y Ciencias de la Salud de la Universidad de León. Su trabajo sobre tumores hepáticos está financiado por el Ministerio de Educación (Programa FPU).



**Javier González-Gallego** es Doctor en Ciencias Biológicas, Licenciado en Medicina y Cirugía, Catedrático del Departamento de Ciencias Biomédicas y Director del Instituto Universitario de Biomedicina (IBIOMED) de la Universidad de León. Docente en los Grados de Biotecnología, Veterinaria, Ciencias de la Actividad Física y del Deporte y en diversos Másteres oficiales. Es coordinador del Máster Universitario en Innovación e Investigación en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte y de su correspondiente Programa de Doctorado, con Mención Hacia la Excelencia. Jefe de Grupo del Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd) del Instituto de Salud Carlos III y líder del Grupo de Investigación de Excelencia GR17 de la Junta de Castilla y León. Su investigación se centra en la fisiopatología hepática, con especial énfasis en hepatocarcinoma, hepatitis, hígado graso y estrés oxidativo tanto en modelos *in vivo* como *in vitro* y en fisiología del ejercicio.