



ANTICUERPOS DE TIBURON ANTI-CITOCINAS: FÁRMACOS POTENCIALES

Tanya A. Camacho Villegas; Cátedra CONACYT adscrita a la Unidad de Biotecnología Médica Farmacéutica, CIATEJ, Guadalajara, 44270. tcamacho@ciatej.mx

Palabras clave: anticuerpos vNAR, citocinas humanas, TNF α , VEGF₁₆₅

Actualmente, existen aproximadamente 35 anticuerpos terapéuticos aceptados por la FDA que son empleados para el tratamiento de enfermedades como artritis reumatoide, psoriasis, cáncer, etc

Los avances en la ingeniería de anticuerpos han permitido grandes áreas de oportunidad incluyendo el bloqueo o neutralización de nuevos blancos terapéuticos y también, la generación de diversos formatos de anticuerpos que parten de la estructura "clásica" como la IgG. Sin embargo, aún existen complicaciones relacionadas con los "anticuerpos convencionales", como son la respuesta ocasionada por la presencia del fragmento Fc y la poca penetración en los tejidos.

Los anticuerpos formados solamente por cadena pesada se describieron en tiburones y se nombraron IgNAR. Se ha demostrado, que los dominios variables de cadena pesada (vNAR) proveniente de estas inmunoglobulinas tienen la capacidad de unirse a su ligando de la misma que lo hacen los anticuerpos convencionales.¹

Los fragmentos de anticuerpos vNAR, tienen un peso molecular de **12-15 kDa** y poseen características únicas, por ejemplo **termostabilidad**, pueden ser calentados por una hora a 95° C con una disminución del 15% de su capacidad de reconocimiento, esto se puede atribuir a la estructura tridimensional del vNAR. Además, cuentan con dos enlaces disulfuro que le dan estabilidad. Se han descrito vNAR con **afinidad** en el rango nanomolar. Adicionalmente, no se ha descrito respuesta inmune de los ratones inyectados contra el vNAR, sin embargo deben realizarse más estudios. También, son candidatos a la humanización, lo cual podría disminuir los efectos adversos a su aplicación. Con estos anticuerpos vNAR, hemos trabajado en la selección de fragmentos con capacidad de reconocimiento y neutralización de citocinas humanas, como la citocina pro-inflamatoria TNF α .

Para demostrar *in vitro* el efecto neutralizante de los vNAR aislados contra TNF α , se realizaron ensayos en células L929.² Además, se realizaron ensayos en ratones con choque endotóxico al aplicar LD₁₀₀.³ Después del tratamiento con el vNAR aplicado intraperitonealmente (1mg/kg), se observó una sobrevida 15% mayor que la comparada con un F(ab)₂. En el caso de la neutralización del factor de crecimiento VEGF₁₆₅, se seleccionaron fragmentos de anticuerpo vNAR con capacidad de neutralizar el efecto inductor de la formación de vasos sanguíneos en un ensayo *in vitro* empleando células de cordón umbilical humano HUVEC. En ensayos *in vivo*, se indujo hipoxia en ojo de conejo y se logró demostrar que existe una disminución en la proliferación de células endoteliales y que el anticuerpo vNAR anti-VEGF tiene la capacidad de penetrar al humor vítreo, lo cual muestra que este anticuerpo tiene potencial como terapéutico a emplearse en colirios en padecimientos como degeneración macular, retinopatía diabética y cáncer.

Considerando el bajo peso molecular, resistencia térmica y versatilidad de los fragmentos de anticuerpo de tipo vNAR, podemos proponer a estas moléculas como potenciales herramientas terapéuticas y de diagnóstico mejorando la prognosis de pacientes con enfermedades crónico-degenerativas e infecciones.

1. Greenberg AS, Avila D, Hughes M, Hughes A, McKinney EC, Flajnik MF. (1995). A new antigen receptor gene family that undergoes rearrangement and extensive somatic diversification in sharks. *Nature*. 374: 168–173.
2. Camacho-Villegas TA, Mata-González T, Paniagua-Solis J., Sanchez E, Licea A. 2013. Human TNF cytokine neutralization with a vNAR from *Heterodontus francisci* shark: a potential therapeutic use. *mAbs*. 5(1): 80–85.
3. Bojalil R, Mata-González MT, Sánchez-Muñoz F, Yee Y, Argueta I, Bolaños L, Amezcua-Guerra LM, Camacho-Villegas TA, Sánchez-Castrejón E, García-Ubbelohde WJ, Licea-Navarro AF, Márquez-Velasco R, Paniagua-Solis JF. (2013). Anti-tumor necrosis factor vNAR single domains reduce lethality and regulate underlying inflammatory response in a murine model of endotoxic shock. *BMC Immunology* 2013, 14:17