

## ANTICUERPOS TERAPEUTICOS: EL CASO DE LOS ANTIVENENOS

Alejandro Alagón Cano

Instituto de Biotecnología, UNAM. Avenida Universidad 2001, Cuernavaca, Mor. 62210. Tel.: (777) 3291649. FAX: (777) 3172388. <alagon@ibt.unam.mx>

Los envenenamientos por animales ponzoñosos son un verdadero problema de salud pública. Anualmente, la Secretaría de Salud reporta del orden de 300,000 picaduras o mordeduras de animales de las que casi el 80% están causadas por alacranes y, el resto, por abejas, arañas y serpientes. El tratamiento de elección es la aplicación del antiveneno específico. Nuestro país dispone de antivenenos de gran calidad contra vipéridos (cascabeles, nauyacac y cantiles), coralillos, la araña viuda negra (o capulina) y los alacranes (o escorpiones), por lo que la mortalidad es más bien baja y continúa descendiendo. Como corolario de lo hasta aquí mencionado, México cuenta con la mayor experiencia clínica, a nivel mundial, en el manejo con anticuerpos de pacientes emponzoñados.

Los venenos son mezclas altamente heterogéneas de compuestos biológica y farmacológicamente especializados. Los compuestos tóxicos son mayormente de naturaleza peptídica o proteica. Los péptidos más importantes de los venenos de los alacranes peligrosos son neurotoxinas que bloquean y/o modifican el mecanismo de apertura y cierre de canales iónicos de las membranas excitables. Los venenos de las víboras poseen proteínas con actividades necróticas, miotóxicas, edematizantes y hemolíticas, mientras que las serpientes de coral tienen neurotoxinas de mediana y baja masa molecular que inhiben la unión neuromuscular. El veneno de la viuda negra se distingue de los anteriores ya que una sola proteína de enorme tamaño es la responsable de la toxicidad en mamíferos. Esta brevísima descripción de los venenos sirve para entender porqué el único recurso eficaz en el tratamiento de estos accidentes son los antivenenos ya que poseen la variedad necesaria de anticuerpos que neutralizan a los distintos componentes tóxicos presentes en un veneno.

El desarrollo de la inmunología y los avances en la seroterapia han estado muy ligados. Los anticuerpos fueron descubiertos en 1890, cuando Behring y Kitasato demostraron que el suero (la porción fluída de la sangre coagulada) de animales inmunizados con toxina diftérica o con toxina tetánica contenía agentes protectores. Al inyectar suero inmune junto con una dosis letal de toxina a animales susceptibles éstos sobrevivieron, en tanto que los animales control, que recibieron toxina pero no suero, murieron. El mismo Emil von Behring, a finales de 1891, trató con suero de oveja inmunizada a un niño Berlínés con difteria que se debatía entre la vida y la muerte; el resultado fue espectacular. En París, otro Emilio, de apellido Roux, repite la experiencia el 1o. de Febrero de 1894; esta vez utiliza antitoxina diftérica producida en caballos. De manera vertiginosa se extiende el uso del suero antidiftérico con la consecuente disminución de la mortalidad asociada en niños. Los antivenenos surgieron muy poco después. C. Phisalix y G. Bertrand por un lado y Albert Calmette por otro, también en 1894, inmunizan caballos con veneno de serpientes europeas y cobras asiáticas, y

demuestran la utilidad de los sueros equinos en el tratamiento de mordidos por serpientes. Había nacido la seroterapia.

Cuando un paciente recibe un suero inmune se dice que ha sido inmunizado pasivamente, condición que contrasta con la inmunización activa que resulta de la exposición directa a un patógeno o toxina. Los principios activos de los sueros inmunes (antisueros) son los anticuerpos. Un anticuerpo es una proteína que se une específicamente a una sustancia en particular, su antígeno. Cada molécula de anticuerpo tiene dos sitios capaces de interaccionar con el antígeno correspondiente, sin embargo, todos los anticuerpos tienen la misma estructura general y a su conjunto se les llama inmunoglobulinas. El papel principal de los anticuerpos es el de incrementar grandemente la eficacia de los mecanismos normales de resistencia hacia un agente específico. Por ejemplo, un antisuero dirigido contra una bacteria contiene anticuerpos que cubren la superficie de la célula bacteriana y la vuelven más susceptible a la fagocitosis; en muchos casos, la cubierta de anticuerpos, permite también que la bacteria pueda ser destruída por el sistema del complemento.

Los anticuerpos protegen no sólo contra las invasiones bacterianas sino también contra la acción de toxinas bacterianas y de ponzoñas de animales venenosos. Como ya se mencionó, si un animal es inmunizado con una toxina desarrollará anticuerpos capaces de combinarse con la misma y neutralizarla, esto es, la hará no tóxica. Un suero que contiene tales anticuerpos es llamado antitoxina (e.g., contra la toxina tetánica); un suero con anticuerpos dirigidos contra los diferentes componentes de un veneno animal es llamado antiveneno (e.g., contra el veneno de alacrán).

Los seroterápicos de primera generación, como los de Behring y Roux, se utilizaron hasta los primeros años de la década de los 30s, si bien aún quedan productores que los siguen preparando. Hasta entonces, las antitoxinas y antivenenos eran los sueros crudos provenientes de caballos hiperinmunizados. Es decir, a los pacientes se les administraban multitud de proteínas séricas irrelevantes que acompañaban a los anticuerpos. Con tales seroterápicos, las reacciones alérgicas y la enfermedad del suero eran muy frecuentes; por ejemplo, se estima que la frecuencia de la enfermedad del suero en los cientos de miles de niños tratados con antitoxina diftérica fue de alrededor del 50%. Esta incidencia se redujo substancialmente con el fraccionamiento de las inmunoglobulinas mediante su precipitación con diversas sales y otros agentes precipitantes. El proceso de precipitación separa, de manera muy eficiente, a las inmunoglobulinas de otras proteínas séricas entre las que destaca la albúmina por su capacidad de inducir reacciones adversas. Los productos constituidos por inmunoglobulinas altamente enriquecidas son la base para la seroterapia de segunda generación que todavía se utiliza ampliamente a nivel mundial.

Posteriormente, en las décadas de los 40s y 50s, se estudió el efecto de varias enzimas proteolíticas sobre las inmunoglobulinas. El resultado principal de estas investigaciones fue el conocimiento de que la función neutralizante de los

anticuerpos (la que interacciona con las toxinas y moléculas de los venenos) puede disociarse de las llamadas funciones efectoras de los anticuerpos (que son las responsables de varios de los efectos secundarios de la seroterapia). La modificación proteolítica, además, reduce el tamaño de las inmunoglobulinas y sus propiedades inmunogénicas y antigénicas. Las inmunoglobulinas purificadas y digeridas con pepsina, es decir, como fragmentos F(ab')<sub>2</sub>, constituyen el estado del arte en la seroterapia de tercera generación o faboterapia. El uso de faboterápicos prácticamente ha eliminado las reacciones de hipersensibilidad de tipo inmediato (anafilaxia) y de tipo tardío (enfermedad del suero). En más de 250,000 pacientes tratados en el IMSS con faboterápicos (Alacramyn® y Antivipmyn®) sólo ha habido una reacción aguda grave y ninguna enfermedad del suero, aun entre los varios miles de pacientes tratados con múltiples dosis o los varios cientos tratados en varias ocasiones en un mismo año. Las estadísticas de la Cruz Roja de León, Gto., con varias decenas de miles de pacientes picados por alacrán, confirman la seguridad de los faboterápicos. Otra ventaja de los fragmentos F(ab')<sub>2</sub> sobre las inmunoglobulinas es que llegan mejor al compartimento extravascular, lo que permite la neutralización eficiente de muchos componentes de los venenos que actúan fuera del torrente circulatorio. Los antivenenos también pueden estar constituidos por fragmentos Fab resultantes de la digestión de inmunoglobulinas con papaína; sin embargo, los fragmentos Fab tienen una vida media muy corta ya que, por su menor peso molecular, se eliminan rápidamente por orina. Este hecho lleva a rebotes de envenenamiento y a la necesidad de aplicar más dosis de antiveneno a lo largo de varios días, como se observa en la práctica clínica en pacientes mordidos por cascabeles en los EE.UU. tratados con esa clase de antivenenos.

Hace casi 9 años propuse los términos faboterapia y faboterápico para reemplazar los de seroterapia y antisuero asociados por médicos y pacientes a reacciones secundarias de alta peligrosidad. Junto con un grupo de expertos clínicos, epidemiólogos, toxicólogos y el Instituto Bioclon, S.A. de C.V., hicimos la solicitud a las autoridades correspondientes; la faboterapia logró ya un lugar propio en la Farmacopea Mexicana y en el cuadro básico de medicamentos del IMSS. Este cambio conceptual ha favorecido su empleo en muchos casos en que su utilidad para salvar vidas, reducir sufrimientos o limitar secuelas es indiscutible.

La tecnología de los faboterápicos se aplica a todos los antivenenos producidos por el Instituto Bioclon, tanto al Alacramyn® como al Antivipmyn® como a los nuevos que hemos desarrollado conjuntamente, como el Aracmyn (antiaraña Viuda Negra o Capulina) y el Coralmy (antiserpiente de Coral o Coralillo), que iniciaron su comercialización en el 2000 y en 1999, respectivamente. Tres de ellos (Alacramyn, Antivipmyn y Aracmyn) fueron designadas como drogas huérfanas por la Food and Drug Administration (FDA) de los EE.UU. y los autorizó como nuevas drogas para investigación (IND). Los tres antivenenos están ya siendo evaluados en sendos ensayos clínicos en varios hospitales de los EE.UU. Se espera la aprobación del antialacránico en el primer semestre de 2007; cuando esto ocurra será el primer producto farmacéutico mexicano que lo logre.

Atendiendo a un llamado hecho por la Organización Mundial de la Salud en el sentido de atender la problemática del desabasto de antivenenos contra serpientes en Africa –medio millón de envenenados por año y sólo disponibles unas cuantas miles de dosis-, el Instituto de Biotecnología, el Instituto Bioclon y los laboratorios del IRD Francés en Senegal, iniciamos, en Febrero de 2004, la producción de un polivalente efectivo para la mayoría de las especies subSaharianas. El primer lote de antiveneno fue entregado en Mayo de 2006 y fue ya evaluado en un estudio clínico que incluyó casi 300 casos tratados en once centros hospitalarios de la República de Benin; los resultados fueron muy buenos.

Otro antiveneno que está por obtener su licenciamiento en nuestro país es el que neutraliza los efectos de la mordedura de la araña violinista (*Loxosceles*). El Loxmyn®, es un antiveneno único en su clase ya que todo el proceso se realiza con toxinas recombinantes de arañas de los EE.UU., México y Perú, por lo que es un producto que sirve para las violinistas de todo el continente americano. Asimismo, como las toxinas tienen actividad enzimática de esfingomielinasa D, la potencia neutralizante del antiveneno se determina mediante un simple ensayo enzimático, evitándose así el uso y muerte de decenas de ratones como ocurre con las pruebas convencionales de toxicidad y neutralización.

Muchos anticuerpos recombinantes son ya una realidad terapéutica para varios tipos de neoplasias, leucemia, linfomas, enfermedades autoinmunes e infecciones virales y, también, para ayudar a evitar rechazos en transplantes de órganos. Es posible preveer que este tipo de enfoque va también a alcanzar el nicho de los antivenenos, en particular el caso de los venenos de baja complejidad (aquellos que sólo tienen uno o muy pocos componentes tóxicos para mamíferos).