

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Los anticuerpos monoclonales en el tratamiento de la sepsis provocada por microorganismos gramnegativos

Lic. Anselmo J. Otero¹ y Lic. Maritza Linares²

RESUMEN

A pesar de los avances en el diagnóstico y la intervención temprana con antibióticos, es alta la morbilidad y mortalidad asociada con la sepsis por bacterias gramnegativas. Los mediadores responsables de la patogénesis de la sepsis son componentes derivados de las propias bacterias (endotoxinas) y de las células de la respuesta inmune del hospedero (factor de necrosis tumoral y algunas interleuquinas). El tratamiento que tradicionalmente se ha utilizado en la sepsis, está dirigido sobre todo contra el microorganismo, mediante el uso de antibióticos cada vez más potentes. Sin embargo, está claro que los antibióticos no constituyen una solución definitiva, ya que aun si provocan la muerte bacteriana, no tienen efectos sobre la endotoxina y pueden aumentar su liberación cuando ocurre la lisis celular. A partir de la década de los 80 se han probado nuevos y exitosos tratamientos para la sepsis, que incluyen el uso de anticuerpos policlonales y monoclonales de origen murino y humano, dirigido contra el lípido A de la endotoxina, así como anticuerpos monoclonales contra el factor de necrosis tumoral. Si bien en todos los casos no se puede hablar de una total eficacia de estas moléculas para interrumpir la cadena de acontecimientos indeseables provocados por la endotoxina, sí es válido celebrar el advenimiento de inmunoterapias como tratamiento adjunto para una condición que amenaza la vida.

Descriptores DeCS: INFECCIONES BACTERIANAS GRAMNEGATIVAS/quimioterapia; INFECCIONES BACTERIANAS GRAMNEGATIVAS/etiología; ANTICUERPOS MONOCLONALES/uso terapéutico; ANTIBIOTICO/uso terapéutico; ENDOTOXINAS/farmacología; FACTOR DE NECROSIS TUMORAL/farmacología.

El síndrome séptico es una causa importante de morbilidad y mortalidad en pacientes hospitalizados. A pesar de los avances alcanzados en las unidades de cuidados intensivos y la intervención temprana con antibióticos apropiados, en la actualidad existe una tendencia hacia el incremento de la mortalidad en pacientes sépticos. Las bacterias grampositivas y gramnegativas pueden producir sepsis, pero en aproximadamente 2/3 de los casos con causa conocida, la sepsis es provocada por agentes gramnegativos. El lipopolisacárido (LPS) de la membrana externa de estas bacterias

es precisamente el principal mediador de las alteraciones que aparecen en la sepsis, como fiebre, *shock*, la activación del complemento, leucocitosis y otras; sin embargo, el componente tóxico fundamental del LPS lo constituye su región hidrofóbica conocida como lípido A, el cual presenta reacción inmunológica cruzada con la mayoría de las bacterias gramnegativas, además, muestra un gran poder inmunogénico. Las propiedades estructurales y biológicas del lípido A han permitido a algunos investigadores sugerir que la inmunoterapia pasiva con anticuerpos di-

¹ Doctor en Ciencias Biológicas. Licenciado en Microbiología. Investigador Titular. Instituto de Medicina Tropical «Pedro Kourí».

² Licenciada en Bioquímica. Profesora Auxiliar. Grupo de Inmunodiagnóstico y Anticuerpos Monoclonales. Facultad de Ciencias Médicas de Pinar del Río.

rigidos directamente contra el lípido A de la endotoxina, debe inhibir los efectos tóxicos de ésta y reducir la mortalidad en pacientes sépticos con bacteriemia gramnegativa.¹

La hipótesis de que los anticuerpos dirigidos contra el lípido A de la endotoxina pueden impedir los efectos tóxicos de ésta y reducir la mortalidad en pacientes con bacteriemia gramnegativa, fue probada clínicamente en 1982.² En este estudio se utilizó un antisuero policlonal humano J5, desarrollado en voluntarios, con células inactivadas con calor del mutante J5 de *Escherichia coli* (0111B4); se estudiaron 2 grupos de pacientes, uno de los cuales estaba representado por individuos sépticos con bacteriemia gramnegativa pero sin *shock* y el otro grupo con bacteriemia gramnegativa y *shock* séptico. La mortalidad encontrada para el primer grupo de pacientes fue de 22 % para los que recibieron el antisuero policlonal humano contra 39 % en los controles. En el segundo grupo la mortalidad en los pacientes tratados fue de 44 % contra 77 % de mortalidad en los pacientes con *shock* que no recibieron el antisuero J5.

En un ensayo profiláctico con pacientes quirúrgicos con alto riesgo de desarrollar infecciones gramnegativas, *Baumgarther* y otros³ demostraron que las dosis repetidas del antisuero J5 no eran capaces de prevenir la adquisición de infecciones por bacterias gramnegativas, pero sí impedían el desarrollo del *shock* séptico en dichos pacientes. En 1991, se conoció un estudio realizado en 27 pacientes con *shock* séptico tratados con un preparado comercial de inmunoglobulinas con IgG, IgM e IgA, que reconocían a determinantes del oligosacárido núcleo y del lípido A del LPS. La preparación de inmunoglobulinas se administró en 3d consecutivos y la mortalidad a las 6 semanas debido al proceso séptico fue de 4 % en el grupo tratado, frente a 32 % en el grupo control.⁴

A pesar de los resultados aparentemente favorables de estos estudios sobre el empleo de anticuerpos policlonales, la utilización de antisueros humanos no parece contar con un porvenir propicio como tratamiento habitual de la sepsis y el síndrome séptico por las razones prácticas ya reconocidas durante años, que fueron, en principio, resueltas con la de la Tecnología de los Anticuerpos Monoclonales, que son inmunoglobulinas humanizables de estructura

homogénea, especificidad predefinida y producción constante a escala industrial.⁵

En la segunda mitad de la década de los 80, se desarrollaron anticuerpos monoclonales que reconocían diferentes epitopes del LPS de las bacterias gramnegativas.⁶⁻⁸

El anticuerpo murino E5 (XOMA-E5, PXMMEN-0 E5, E5), es una molécula cuyo peso molecular es de 970 kD, pertenece a la clase IgM y reconoce al lípido A del lipopolisacárido de la pared celular presente en los bacilos gramnegativos clínicamente importantes.^{9,10} Es similar a la IgM del suero, compuesta por 5 subunidades monoméricas unidas por enlaces disulfuro entre residuos de cisteína. Este anticuerpo fue desarrollado por inmunización de ratones Balb/c con la cepa mutante J5 de *E. coli* 0111B4, este mutante es idéntico al usado en la producción de antisueros humanos. La vida media del E5 en la circulación es de 18 a 20 h, según estudios realizados en pacientes sépticos y confirmado de forma consecuente en voluntarios saludables.¹¹

Se han desarrollado diferentes estudios preclínicos con este anticuerpo, el más reciente de los cuales trata sobre el uso del E5 como monoterapia en ratas con sepsis intraabdominal fulminante y demostró que el efecto primario de dicho anticuerpo fue reducir los niveles plasmáticos de la endotoxina, del TNF y el lactato, pero no fue capaz de reducir la bacteriemia.¹²

En 1991, *Greenman* y otros¹³ estudiaron 316 pacientes con infección por bacterias gramnegativas; de ellos; 137 no presentaban *shock* séptico mientras que 179 sí lo tenían. El AcM E5 disminuyó de forma significativa la mortalidad en el primer grupo, mientras que los pacientes con *shock* séptico no fueron protegidos con el E5. Resultados similares fueron obtenidos por *Wenzel* y otros en ese mismo año; al estudiar 931 pacientes sépticos comprobaron que el E5 era capaz de mejorar la supervivencia de pacientes con sepsis por bacterias gramnegativas pero sin *shock*.¹⁴ Estos resultados provocaron poco después que el anticuerpo E5 no fuera aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) para uso en humanos.

En fecha reciente se reportaron los resultados de un ensayo clínico donde se evaluó la eficacia del E5 en el tratamiento de la sepsis gramnegativa. Este estudio incluyó a 847 pacientes de 53 hospitales de

EE.UU. que debían cumplir 3 condiciones: infección por bacterias gramnegativas conocida o sospechada, evidencia clínica de sepsis y signos de disfunción de órganos. Los pacientes fueron divididos en 3 grupos, un grupo control y otro experimental donde se les administró 2 mg/kg de peso al día del E5, en 2 dosis por vía intravenosa; todos los pacientes, tanto los tratados con el E5 como el grupo control, recibieron una terapia con antibióticos de amplio espectro. En este estudio el E5 no redujo de forma significativa la mortalidad en los pacientes con sepsis gramnegativa; sin embargo, provocó una gran mejoría en el fallo de órganos de los pacientes tratados, además el E5 ayudó significativamente a disminuir el síndrome de dificultad respiratoria en el adulto y el fallo de órganos del sistema nervioso central. Estos investigadores concluyen que, aunque se requieren de otros estudios, el E5 es muy útil para el tratamiento de la sepsis gramnegativa.¹⁵

El anticuerpo monoclonal HA-1A (CENTOCOR) es una molécula de origen humano obtenida por *Teng* y otros,¹⁶ pertenece a la clase IgM y tiene una masa molecular de 900 kD. El HA-1A reconoce al lípido A del LPS de las bacterias gramnegativas y es producido por una línea celular de heterohibridoma estable (A6[H4C5]). Para desarrollar esta línea celular se utilizó como antígeno la cepa J5 de *E. coli* inactivada por calor, la misma utilizada en la obtención de antiseros policlonales.

Se han publicado varios estudios vinculados al efecto que desencadena el HA-1A en animales de experimentación con bacteriemia gramnegativa; al respecto se reportan resultados contradictorios.¹⁷

En 1991 se estudiaron 200 pacientes con bacteriemia gramnegativa, de ellos 105 recibieron el AcM HA-1A y 95 formaron el grupo control. El grupo experimental recibió 100 mg de HA-1A con 3,5 g de albúmina sérica humana, en un volumen final de 50 mL por vía intravenosa. Al cabo de los 28 d la mortalidad en este grupo fue de 30 %, mientras que en el grupo control fue de 49. De los 105 pacientes del grupo que recibieron el AcM, 54 tenían *shock* y de ellos murieron 18, para 33 % de mortalidad, mientras que de los 95 controles tenían *shock* 47, de éstos murieron 27 para 57 % de mortalidad. Este ensayo demostró que el HA-1A redujo significativamente la mortalidad en pacientes sépticos con y sin *shock*.¹⁸

A pesar de los efectos beneficiosos atribuidos al HA-1A al inicio de la década de los 90, en un estudio de cohorte realizado en 1994 en 600 pacientes con infecciones por bacterias gramnegativas o bacteriemia gramnegativa, no se confirmó una reducción de la mortalidad en este grupo de pacientes como fue reportado en los primeros ensayos clínicos de este AcM.¹⁹ Por esta razón, el anticuerpo HA-1A tampoco fue aprobado por la FDA para uso en humanos con la consiguiente convulsión en el promisorio mercado para los monoclonales terapéuticos en el campo de las infecciones sanguíneas generalizadas. Esto ha motivado que se encuentren en curso ensayos clínicos mejor diseñados y convincentes teniendo en cuenta que los anteriores fueron afectados por la premura de la competencia comercial. Todo parece indicar la factibilidad de exploración de otras alternativas dentro de los protagonistas moleculares del proceso séptico.

Los efectos del HA-1A sobre la producción de otras citoquinas fue estudiado recientemente²⁰ al medirse las concentraciones de IL-1b, IL-6 y TNF que aparecían en muestras de sangre de 15 pacientes con sepsis, después de incubarlas con el AcM durante 24 h, este estudio *in vitro* demostró que el HA-1A no provocó un aumento ni de la IL-1b ni del TNF, pero sí aumentó la producción de IL-6, lo cual está asociado con un aumento en la mortalidad. Este estudio sugiere que la terapia para el tratamiento de la sepsis requiere de una evaluación cuidadosa de la capacidad de los productos terapéuticos en afectar la producción de citoquinas.

Son muchos los reportes que aseguran la hipótesis de que el TNF, citoquina producida por los macrófagos activados, es un importante mediador de las manifestaciones clínicas de la sepsis.²¹

Con el advenimiento de la biología molecular, comenzó a desarrollarse el TNF recombinante para ser utilizado en el tratamiento del cáncer, pero éste no fue eficaz debido a que provocó toxicidad sistémica a las dosis por debajo de la terapéutica.²² Estudios posteriores demostraron que el TNF aumentaba en la sangre al cabo de los 60 a 70 min de estar en contacto con la endotoxina y su elevación fue asociada con otras manifestacio-

nes en los pacientes como dolor de cabeza, mialgias, náuseas, escalofríos, etcétera.²³

En 1992 se comprobó la eficiencia y el mecanismo posible de protección de un AcM contra el TNF en un modelo de mono cinocéfalo africano (mandril). Los parámetros estudiados fueron monitoreados a los días 0, 1, 2 y 5-7 después de inoculados 2 mg de endotoxina de *E. coli* por kilogramo de peso,²⁴

Encontraron en el grupo tratado con el AcM anti-TNF, al compararlo con el control, una disminución de los niveles de TNF séricos, mejoramiento de la función cardiovascular, incremento más ligero de los niveles de IL-6, y además no ocurrieron muertes en el grupo tratado.

Otros reportes de años más recientes sugieren que la liberación de TNF ∞ está relacionada directamente con la producción de IL-6. Muller y otros en 1994, encontraron en un modelo porcino de sepsis inducida por la inoculación de *Pseudomonas aeruginosa* vivas, que en el grupo de animales donde se administraba un AcM anti-TNF ∞ previo a la inducción de la sepsis, se detectó una disminución de la actividad del TNF ∞ , así como de los niveles de IL-6.²⁵ Resultados similares fueron encontrados en 1995 por Stack y otros²⁶ quienes en un estudio con conejos les administraron *E. coli* vivas por vía intraperitoneal, detectaron en todos los animales que recibieron el AcM anti-TNF una disminución significativa de dichas citoquinas y no encontraron una mejoría en la sobrevivencia de los animales en estudio. En ese mismo año diversos investigadores encabezados por Dhainaut²⁷ determinaron la eficiencia del AcM humanizado CDP571 contra el TNF ∞ en un grupo de pacientes con shock séptico; encontraron una rápida reducción de los niveles de TNF ∞ circulantes 30 min después de administrar el AcM, asociado con una disminución de los niveles de IL-6, sin embargo, ellos concluyen que se requiere de otros estudios para determinar la eficiencia de dicho anticuerpo en la mejoría de la supervivencia en pacientes con sepsis severa.

Como puede apreciarse después de este análisis y como conclusión, el tratamiento del proceso séptico, el síndrome séptico y el shock séptico, debe basarse no sólo en el uso de antibióticos efectivos contra los agentes involucrados, sino también en la utilización combinada de inmunoterapias que utilicen anticuerpos policlonales y monoclonales dirigidos contra la endotoxina, el factor de necrosis tumoral y quizás otras moléculas de adhesión responsables de la cadena de acontecimientos y alteraciones con frecuencia fatales, que aparecen en el paciente séptico.

SUMMARY

In spite of the advances attained in the diagnosis and early intervention with antibiotics, morbidity and mortality associated with sepsis caused by Gram-negative bacteria are high. The mediators responsible for the pathogenesis of the sepsis are components derived from the own bacteria (endotoxins) and from the cells of the immune response of the host (tumor necrosis factor and some interleukins). The treatment traditionally used in sepsis is mainly directed against microorganisms by the use of increasingly potent antibiotics. However, it is clear that antibiotics are not a definitive solution, since even when they cause bacterial death, they have no effects on endotoxin and may increase their liberation when cellular lysis occurs. New and successful treatments for sepsis have been tried since the 1980's, including the use of polyclonal and monoclonal antibodies of murine and human origin, directed against the lipid A of the endotoxin, as well as monoclonal antibodies against the tumor necrosis factor. Although these molecules are not completely efficient for the interruption of the chain of undesirable events provoked by the endotoxin, it is valid to accept the appearance of immunotherapies as an adjuvant treatment for a condition that threatens life.

Subject headings: GRAM-NEGATIVE BACTERIAL INFECTIONS/drug therapy; GRAM-NEGATIVE BACTERIAL INFECTIONS/etiology; ANTIBODIES MONOCLONAL/therapeutic use; ANTIBIOTIC/therapeutic use; ENDOTOXINS/pharmacology; TUMOR NECROSIS FACTOR/pharmacology.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Smith CR, Straube RC, Ziegler EJ. HA-1A. A human monoclonal antibody for the treatment of gram-negative sepsis. *Infect Dis Clin North Am* 1992;6(1):253-66.
2. Ziegler EJ, McCuchan JA, Fierer J, Glauser MP, Sadoff JC, Douglas H, et al. Treatment of gram-negative bacteremia and shock with human antiserum to a mutant *Escherichia coli*. *N Eng J Med* 1982;307:1225-30.
3. Baumgartner JD, Glauser MP, McCuchan JA, Ziegler EJ, Van Melle G, Klauber MR, et al. Prevention of gram-negative shock and death in surgical patients by prophylactic antibody to endotoxin core glycolipid. *Lancet* 1985;2:59-63.
4. Esteban A, Alia EI. Anticuerpos monoclonales en la sepsis y el shock. *Med Intensiva* 1992;16(5):243-5.
5. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody predefined specificity. *Nature* 1975;256:195-8.
6. Appelmek BJ, Verweij-von VAMJJ, Maaskant JJ, Schouten WF, Thijs LG, McLaren DM. Monoclonal antibodies detecting novel structures in the core region of *Salmonella minnesota* lipopolysaccharide. *FEMS Microbiol Lett* 1987;40:71-4.
7. Pollack M, Chia JKS, Kales NL, Miller M, Guelde G. Specificity and cross-reactivity of monoclonal antibodies reactive with the core and lipid A regions of bacterial lipopolysaccharide. *J Infect Dis* 1989;159:168-88.
8. Young LS, Gascon R, Alam S, Bermudez LE. Monoclonal antibodies for treatment of gram-negative infections. *Rev Infect Dis* 1989;11 (Suppl 7):S1564-S1571.
9. Wood DM, Parent JB, Gazzano-Santoro H, Lim E, Pruyne PT, Watkins JM, et al. Reactivity of monoclonal antibody E5 with endotoxin I. Binding to lipid A and rough lipopolysaccharides. *Cir Shock* 1992;38:55-62.
10. Parent JB, Gazzano-Santoro H, Wood DM, Lim E, Proyne PT, Trown PW, et al. Reactivity of monoclonal antibody E5 with endotoxin II. Binding to short-and long-chain smooth lipopolysaccharides. *Cir Shock* 1992;38:63-73.

11. Wedel NI, Gorelick KJ, Saria EA. Pharmacokinetics and safety of anti-endotoxin antibody E5 in normal subjects. *Crit Care Med* 1990;18:5212-6.
12. Lundblad R, Giercksky KE. Synergistic effect of Esimipenem and volume support during fulminant inter-abdominal sepsis in rats. *J Infect Dis* 1995;172(1):152-160.
13. Greenman RL, Schein RMH, Martin MA, Wenzel RP, Macintyre NR, Emmanvel GA. Controlled clinical trial of E5 murine monoclonal IgM antibody endotoxin in the treatment of gram-negative sepsis. *J Am Microbiol Assoc* 1991;266:102-6.
14. Wenzel R, Bone R, Flin A, Quenzer R, Schenteg J, Gorelick KJ. Results of a second double-blind randomized, controlled trial of anti-endotoxin antibody E5 in gram-negative sepsis. Program and abstracts of the Thirty First Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. *Am Soc Microbiol* 1991;1170-294.
15. Bone RC, Balk RA, Fein Am, Perl TM, Wenzel RP, Reines HD, et al. A second large controlled clinical study of E5, a monoclonal antibody to endotoxin: results of a prospective, multicenter, randomized, controlled trial. The E5 Sepsis Study Group. *Crit Care Med* 1995;23(6):994-1006.
16. Teng NN, Kaplan HS, Hebert JM. Protection against gram-negative bacteremia and endotoxemia with monoclonal IgM antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:1790-4.
17. Warren HS, Danner RL, Munford RS. Sounding board anti-endotoxin monoclonal antibodies. *N Eng J Med* 1992;326(17):1151--7.
18. Ziegler EJ. Treatment of gram-negative bacteremia and septic shock with HA-1A human monoclonal antibody against endotoxin. *N Eng J Med* 1991;324(14):429-36.
19. Editorial the French National Registry of HA-1A (cetotoxin) in septic shock. A cohort study of 600 patients. The National Committee for Evaluation of Cetotoxin. *Arch Intern Med* 1994;154(21):2484-91.
20. Yentis SM, Soni N, Riches PG. In vitro effects of HA-1A (cetotoxin) on cytokine production in whole blood from intensive care unit patients. *Br J Anaesth* 1994;73(6):805-11.
21. Spooner CHE, Markowitz NP, Sarrvolatz LD. The role of tumor necrosis factor in sepsis. *Clin Immunol Immunopathol* 1992;62(1):11-7.
22. Selby P, Hobbs S, Viner C. Tumor necrosis factor in man: clinical and biological observations. *Br J Cancer* 1987;56:803-8.
23. Michie HR, Manogue KR, Spriggs DR. Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. *N Engl J Med* 1988;318:1481-6.
24. Emerson TE, Craig LD, Jesmok GJ, Duerr ML, Fournel MA. Efficacy of monoclonal antibody against tumor necrosis factor alpha in an endotoxemic Baboon model. *Cir Shock* 1992;38:75-84.
25. Mullen PG, Fisher BJ, Walsh CJ, Susskind BM, Leeper-Woodford SK, Jesmok GJ, et al. Monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alfa attenuates plasma interleukin-6 levels in porcine gram-negative sepsis. *J Surg Res* 1994;57(5):625-31.
26. Stack AM, Saladino RA, Thmpson C, Sattler F, Weiner DL, Personet J, et al. Failure of prophylactic and the therapeutic use of a murine anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody in *E. coli* sepsis in the rabbit. *Crit Care Med* 1995;23(9):1512-8.
27. Dhainaut JF, Vincent JL, Ricard C, Lejeune P, Nertin C, Fierobe L, et al. CDP 571, a monoclonal antibody a human tumor necrosis factor-alfa: safety, pharmacokinetics, immune response and influence of the antibody on cytokine concentration in patients with sepsis shock. *Crit Care Med* 1995;23(9):14-9.

Recibido: 27 de enero de 1997. Aprobado: 11 de abril de 1997.

Lic. *Anselmo Otero*. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri"
Apartado 601, Marianao 13, Ciudad de La Habana, Cuba.