

Anticuerpos monoclonales sin el empleo de modelos animales

La generación de anticuerpos monoclonales mediante el uso de inmunización previa de animales (sobre todo ratón y rata) y generación de hibridomas por la tecnología desarrollada por los Dres. César Milstein y George Köhler en 1975, y por la cual recibieron el Premio Nobel de Medicina y/o Fisiología en 1984, ha permitido un desarrollo sin precedentes en los campos del diagnóstico, purificación de compuestos, investigación y tratamiento de multitud de enfermedades, desde el cáncer a las afecciones autoinmunes, alérgicas e infecciosas. Existen actualmente miles de anticuerpos frente a distintos elementos, lo que ha permitido el extraordinario avance en muchos campos, fundamentalmente en el biomédico, pero también en otras disciplinas como ecología, veterinaria, botánica, etc.

Con la idea de proponer métodos alternativos al uso de animales en experimentación, el EURL ECVAM's Scientific Advisory Committee ([ESAC](#)) realizó un informe sobre la validez científica de reemplazar anticuerpos derivados de animales por métodos alternativos, como el uso de **librerías de fagos ("phage display")**. <https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/meetings/commprac-2020/20200121-iccvam-cop-clewell-508.pdf>. Basado en dicho estudio, se publicó recientemente una **recomendación** en el JRC Science for Policy report.

<https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC120199/jrc120199pdf.pdf>

Sin embargo hay que tener en cuenta una serie de condicionantes que hace que la tecnología de obtención de hibridomas sea todavía necesaria:

1. **No existen librerías de fagos universales** y, en muchos casos, se sigue requiriendo la inmunización de los animales para la obtención de la librería de fagos, por lo que no se sustituye el uso de animales.
<https://www.proteogenix.science/antibody-production/phage-display-services/rabbit-monoclonal-antibody-production/>
2. El uso de genotecas de fagos presenta algunas **limitaciones** para generar anticuerpos **frente a estructuras nativas** (como la de un virus).
3. El proceso de hipermutación somática *in vivo* permite obtener anticuerpos monoclonales con mucha **más alta afinidad y especificidad**. La afinidad de los anticuerpos obtenidos con la tecnología de fagos suele ser más baja que con los hibridomas convencionales, y para incrementar la afinidad de los fagos, es necesario desarrollar tecnología adicional, que conlleva mucho tiempo de experimentación y un incremento significativo en el coste.
4. La tecnología de hibridomas permite aislar anticuerpos naturales generados en el **contexto de una respuesta inmunitaria contra un antígeno determinado**. Esto hace que se pueda obtener información muy valiosa acerca de cómo

funciona el sistema inmunitario ante ese antígeno. Esta información incluye los genes de las inmunoglobulinas involucradas, presencia de reordenamientos secundarios, inserciones y deleciones, maduración de la afinidad, relación clonal de distintos anticuerpos, isotipo, etc. Toda esta información, además del anticuerpo en sí, es crucial, por ejemplo, para el **desarrollo de vacunas**. Toda esta información no se puede obtener utilizando los métodos alternativos disponibles en la actualidad como la tecnología de fagos.

5. La tecnología de fagos recombinantes **es más cara** que hacer hibridomas convencionales. <https://www.technologynetworks.com/drug-discovery/blog/hybridoma-vs-phage-display-for-monoclonal-antibody-production-which-technique-for-which-purpose-314741>.
6. No todos los laboratorios cuentan con **experiencia** para incorporar dichos métodos alternativos de forma rápida. El uso de fagos es técnicamente más difícil de realizar, por lo que se impedirá que grupos que tradicionalmente trabajaban con anticuerpos, puedan seguir haciéndolo.
7. No todos los grupos de investigación pueden adaptar fácilmente sus laboratorios y reconvertirlos para trabajar con fagos recombinantes y bacterias (requieren de **laboratorios diseñados especialmente para este fin**).

Todo esto hace que la tecnología de obtención de hibridomas no pueda ser totalmente remplazada por métodos alternativos como el “phage display” en el momento actual.

Así mismo, es importante destacar que para la obtención de los hibridomas, el único paso que requiere el uso de animales es durante la fase de **inmunización**. Las siguientes fases: fusión celular, selección de clones y producción de los anticuerpos no necesitan de animales de experimentación. En este sentido, los protocolos actuales garantizan el bienestar del animal. Se han mejorado notoriamente los sistemas de adyuvantes, reduciéndose al mínimo el uso de los más agresivos como el adyuvante completo de Freud. Se ha reducido el número de inmunizaciones necesarias para generar una buena inmunización. Se han mejorado las rutas de inmunización, minimizando los efectos adversos que se puedan ocasionar. El proceso de inmunización es similar al que se sigue durante el desarrollo de anticuerpos policlonales o de vacunas. Finalmente, todos los protocolos que requieren el uso de animales de experimentación se rigen por estrictas normativas nacional y europea, cuentan con la aprobación y supervisión de los comités de ética pertinentes y se realizan por personal altamente cualificado y en centros acreditados. Todo esto garantiza, que la experimentación con animales se realiza poniendo en mayúsculas el **“BIENESTAR ANIMAL”**.

A todos estos aspectos se une que la **introducción de nuevas tecnologías en un laboratorio es costosa** y requiere de **formación** con un entrenamiento adecuado del personal y un **tiempo de adaptación**. Son un número muy pequeño los laboratorios que tienen acceso a librerías de fagos. Más aún, incluso los expertos del comité ESAC indican

que *las instituciones académicas deberían proporcionar librerías recombinantes universales y apoyar el desarrollo y servicios de producción para dichas actividades de investigación*, reconociendo implícitamente la enorme dificultad de implementar la tecnología basada en librerías de fagos.

Es por ello, que mientras realmente no exista la opción de poder tener dicha alternativa, consideramos que no es posible hacer la transición de forma rápida, ya que este proceso debe incluir formación, reciclaje de los investigadores, poder contar con librerías de fagos universales, apoyo de las instituciones para readaptar los laboratorios, una inversión económica muy significativa, etc. Entendemos que debería hacerse con un plazo temporal de unos años, estableciendo una hoja de ruta que fomente desde las instituciones las adaptaciones necesarias para que los investigadores poco a poco puedan iniciar el desarrollo de anticuerpos monoclonales por vías alternativas al modelo tradicional de obtención de hibridomas.

La **Sociedad Española de Inmunología** considera que la tecnología de hibridomas es todavía necesaria para el desarrollo de las ciencias biomédicas y que se necesita potenciar el desarrollo de métodos alternativos, como el “phage display” en paralelo, sin bloquear la tecnología actual de producción de hibridomas.

Además debería establecerse un periodo de adaptación que permita tener:

1. Disponibilidad de genotecas de fagos universales a disposición de los investigadores.
2. Entrenamiento de los investigadores en esta nueva tecnología.
3. Financiación para adaptación/reestructuración de instalaciones en los laboratorios.
4. Desarrollo de servicios en las instituciones académicas/investigación para generación de anticuerpos monoclonales mediante el uso de librerías de fagos.
5. Apoyo a la investigación, tan necesaria en estos momentos, con las herramientas actualmente disponibles.

Por todo lo expuesto anteriormente, solicitamos que no debe impedirse continuar con los proyectos de investigación que ya están en marcha, ni tampoco impedir que se soliciten nuevos proyectos empleando la tecnología de hibridomas de forma inmediata, habida cuenta de que los métodos alternativos **como el “phage display” no pueden reemplazar en el momento actual** la generación de hibridomas para la producción de anticuerpos monoclonales murinos, **ni tampoco proporcionan la misma información científica**, que puede ser crucial para aspectos como el **desarrollo de vacunas**.

31 mayo 2020

Junta directiva de la SEI