

Anticorpi

Monoclonali e policlonali

1 Introduzione

La risposta immunitaria **umorale** umana è mediata dagli anticorpi, proteine prodotte dai linfociti B in grado di riconoscere uno specifico antigene.

L'antigene è una molecola riconosciuta come estranea dall'organismo, una cui specifica frazione, definita **determinante antigenico** o **epitopo**, è legata e riconosciuta da un opportuno anticorpo.

2 Policlonali

Un estratto di anticorpi policlonali è una miscela eterogenea di anticorpi prodotti da differenti plasmacellule contro un antigene, ciascuna in grado di produrre una specifica classe di immunoglobuline.

Queste ultime si legano perciò a epitopi diversi dello stesso antigene.

Gli anticorpi policlonali si trovano nell'**antisiero**, ottenuto dal sangue di animali esposti a uno specifico antigene.

2.1 Produzione

1. **preparazione dell'antigene** in una soluzione priva di contaminanti
2. **selezione e preparazione dell'adiuvante** che coniugato all'antigene amplifica la risposta immunitaria specifica
3. **selezione dell'animale** in base all'anticorpo di interesse, alla quantità richiesta e all'organismo di destinazione
4. **prelievo del campione di siero di controllo**
5. **iniezione di antigene-adiuvante**
6. **estrazione del siero con gli anticorpi**
7. **confronto fra siero e controllo con ELISA**

2.2 Impieghi

L'antisiero ad alta concentrazione e affinità viene impiegato prevalentemente per sperimentazione e test diagnostici.

2.2.1 Eritroblastosi fetale

Per il suo trattamento si iniettano anticorpi anti-D in una madre Rh- che abbia avuto un figlio Rh+. L'anticorpo lega i globuli rossi Rh+ fetali, evitando che si innesci una risposta immunitaria che porti alla produzione di anticorpi anti-Rh+ che comprometterebbero un secondo feto Rh+.

2.2.2 Epatite C

HCV ha un ciclo di replicazione che coinvolge il citoplasma, possedendo proteine adibite a penetrazione, infezione, replicazione e maturazione. Gli anticorpi per il trattamento sono inibitori di tali proteine.

Gli inibitori della proteasi **NS5A** bloccano la replicazione e mediano altri effetti che aiutano a sopprimere la resistenza del virus.

Anti-HCV possono essere estratti dal fluido ascitico di pazienti affetti, e usati a fine diagnostico e immunoistochimico.

3 Monoclonali

Sono immunoglobuline **omogenee**, dirette contro un **unico epitopo** della molecola antigenica. Vengono prodotti selezionando un linfocita specifico, che produce anticorpi con le caratteristiche desiderate, fra quelli ottenuti in una normale risposta policlonale.

3.1 Produzione

1. **immunizzazione**, analoga a quella utilizzata per gli anticorpi policlonali
2. **selezione e prelievo della milza**, per l'elevato titolo anticorpale
3. **scelta del mieloma**, un tumore maligno del sangue che causa una proliferazione incontrollata di plasmacellule (difetto di HGPRT)
4. **fusione** dei linfociti selezionati con quelli maligni, con generazione di un **ibridoma** che contiene i geni di entrambi permettendo una produzione potenzialmente illimitata dell'anticorpo di interesse
5. **crescita selettiva dell'ibridoma** in un terreno di coltura individuale per ogni cellula, studiato per eliminare cellule non fuse e ibridi mieloma/mieloma o milza/milza
6. **screening dell'anticorpo** con **ELISA**, un dosaggio enzimo-immunologico, o **RIA**, radio-immunologico
7. **clonazione** precoce per eliminare ibridi non produttori anticorpi, selezionando quello più stabile

8. **caratterizzazione dell'anticorpo** mediante studi di specificità e purezza
9. **produzione dell'anticorpo** che può continuare indefinitamente in vitro. In vivo, oggi raro, gli anticorpi possono essere estratti dal fluido ascitico di topi in cui sono stati iniettati gli ibridomi. Gli anticorpi vengono **crioconservati**.

In alternativa gli anticorpi monoclonali vengono prodotti con tecniche di **ingegneria genetica**, ad esempio qualora non sia disponibile un mieloma adatto. Essa prevede la sintesi di un DNA ricombinante codificante per una Ig formata dalla regione costante della Ig umana, e dalla regione variabile di quella di topo.

Ciò permette un minor rischio di reazione immunitaria nel paziente.

È possibile infine utilizzare topi transgenici in cui il gene per le Ig venga silenziato e sostituito da omologhi codificanti per le varianti umane.

3.2 Impieghi

Trattamenti contro il cancro prevedono l'uso di anticorpi monoclonali che si leghino agli antigeni tumore-specifici espresse dalle cellule cancerose.

Tali anticorpi possono essere coniugati a chemoterapici quali tossine, radionuclidi e citochine.

3.2.1 Cetuximab

Si tratta di un anticorpo monoclonale IgG1 chimerico uomo/topo ad ampia azione, utilizzato per il trattamento del carcinoma colon-rettale.

Viene prodotto in una linea cellulare di mammifero mediante DNA ricombinante ed è diretto contro **EGFr**.

Tale RTK è il mediatore di segnali extracellulari di crescita, differenziamento, sopravvivenza e angiogenesi, ed è frequentemente sovra-espresso o iperattivato nei tumori di origine epiteliale.

L'anticorpo compete con EGF, TGF α e neoregulina e induce l'internalizzazione e degradazione del recettore, e bloccando i segnali da esso trasdotti.

In sintesi, blocca l'attività riparatoria e angiogenica attuata dalle cellule tumorali in risposta al trattamento chemo/radioterapico, sopprimendo la crescita tumorale.