

Fármacos monoclonales en la terapéutica neumológica

PEDRO CABRERA NAVARRO

Servicio de Neumología
Hospital Universitario Dr. Negrín

Correspondencia: Pedro Cabrera Navarro
Barranco de la Ballena s/n
35020 Las Palmas de Gran Canaria

e-mail: pcabnav@gobiernodecanarias.org

RESUMEN

En la segunda mitad del siglo XX se alcanzó, primero, un gran desarrollo en el conocimiento de las relaciones intercelulares y, posteriormente, en la tecnología de anticuerpos monoclonales como marcadores de laboratorio. Con este conocimiento, en la primera década del siglo XXI, con la humanización de los anticuerpos monoclonales, ha aparecido una nueva serie de fármacos de vanguardia, altamente selectivos, que pueden interferir en los mecanismos patogénicos de diferentes enfermedades.

En la actualidad, las publicaciones médicas de mayor prestigio están informando, con gran profusión, de sus resultados clínicos. Dentro de la neumología, sólo uno de estos fármacos -omalizumab (Xolair®)- ha sido autorizado para el tratamiento del asma aunque se han publicado diversos estudios con otros anticuerpos monoclonales que inciden en las vías etiopatogénicas del asma. La investigación de estos fármacos en el carcinoma de pulmón está menos desarrollada pero no es menos prometedora.

En esta revisión, se analizan los fundamentos de la terapéutica con anticuerpos monoclonales y se actualiza la investigación que se está desarrollando en el campo de la neumología.

PALABRAS CLAVE: Monoclonales, asma, cáncer de pulmón, omalizumab, xolair

Anticuerpos monoclonales en la terapéutica neumológica. Introducción

En la actualidad, la investigación biomédica se ha centrado en aquellos mecanismos de la biología molecular que rigen los procesos patogénicos de diferentes enfermedades. Especialmente de las enfermedades alérgicas, las autoinmunita-

rias y las tumorales. Estamos viviendo una época de avance tecnológico que se inicia con la aparición de fármacos de ingeniería molecular que han dado origen a los conocidos como receptores solubles y anticuerpos monoclonales de carácter terapéutico¹. Los primeros, conocidos también como proteínas de fusión o "receptores señuelo" (*decoy receptors*), están formados por proteínas humanas recombinantes que configuran una proteína de diseño, con una

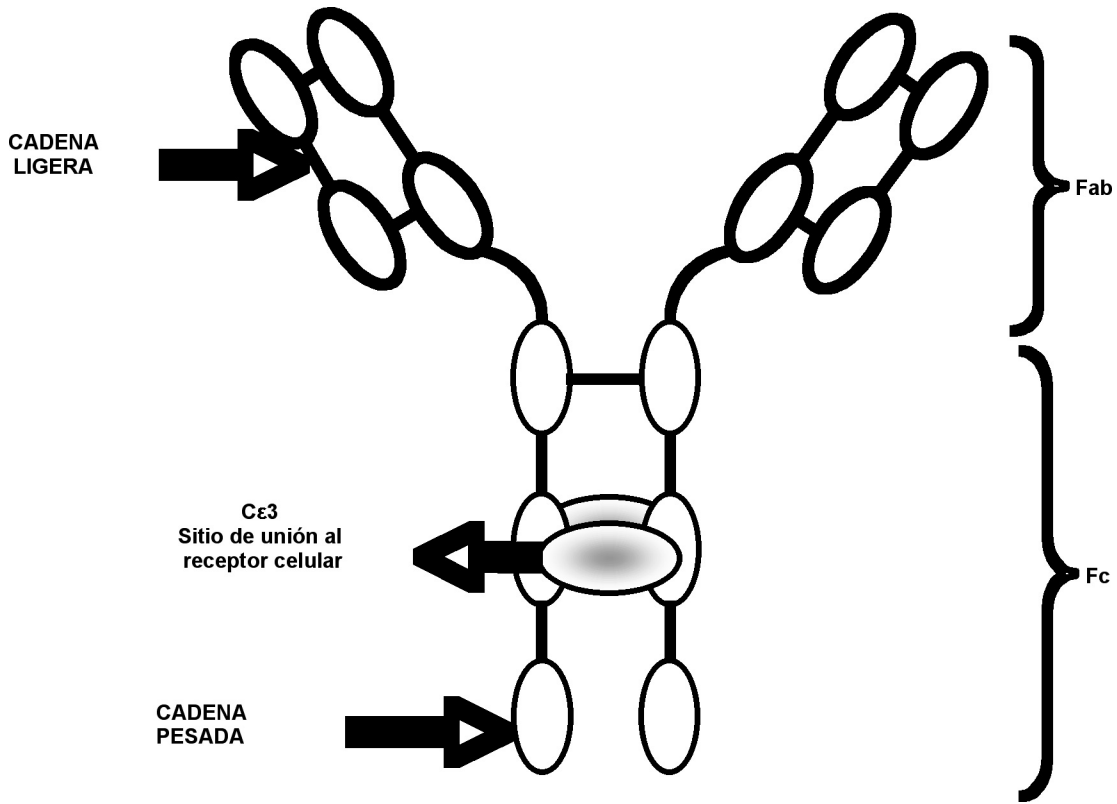


Figura 1. Estructura de la inmunoglobulina E humana (IgE). La región Fab es la parte variable de la molécula y la que tiene especificidad para reconocer a un alérgeno determinado. La región Fc es la estructura común de todas las moléculas IgE, cualquiera que sea su especificidad. En esta región se sitúa el dominio C ϵ 3, sitio de unión a los receptores de membrana celulares, dominio común y específico de todas las moléculas de IgE. Obsérvese que se expresa a ambos lados de la estructura molecular.

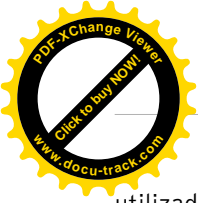
función biológica determinada. En muchas ocasiones se trata de un receptor específico de membrana celular, que se fusiona a la región Fc de una IgG1 o IgG4. El resultado es una molécula artificial, cien por cien humana, que el sistema inmunológico reconoce como propia. De esta forma, se mantiene la actividad del receptor en estado libre, soluble, sin enclavarse en la membrana celular, conservando su capacidad de captar la molécula diana sin que esta llegue a activar el proceso celular patológico. De este tipo de fármacos, todos ellos conocidos con el sufijo -cept, es el etanercept (enbrel®), un receptor soluble que bloquea la citocina TNF- α , y es un fármaco utilizado actualmente en el tratamiento de la artritis reumatoide.

Mayor desarrollo terapéutico se ha logrado con los anticuerpos monoclonales, conocidos internacionalmente por las siglas mAbs (*monoclonal antibodies*). Dentro de la neumología los anticuerpos monoclonales se han desarrollado

para el tratamiento del asma y, con mucho menor desarrollo, como acompañantes de la quimioterapia y la radioterapia del cáncer de pulmón.

Producción de anticuerpos monoclonales

Los anticuerpos monoclonales son inmunoglobulinas de origen clonal, y por tanto con una especificidad antigénica única, por lo que son muy precisos en sus objetivos, identificando proteínas séricas, receptores celulares y agentes patógenos. Por ello, como reactivos de laboratorio, han conquistado un papel relevante en la investigación molecular y se utilizan en la práctica diaria en laboratorios clínicos y en tinciones histológicas. Su precisión es tal que se han conocido como "balas mágicas", ya que podrían ser



utilizados como vehículos de agentes terapéuticos contra células concretas. La respuesta biológica en la formación de anticuerpos es de carácter policlonal, ello implica que frente a un agente con capacidad inmunogénica se forman diferentes anticuerpos que reconocen diferentes partes de la estructura molecular del agente (determinantes antigénicos o epitopos); cada uno de esos anticuerpos procede de un clon de células B. Así pues, ante una proteína o un péptido inmunógeno, múltiples clones de linfocitos B se implican en la respuesta inmunológica normal, reconociendo cada uno de ellos una parte concreta del agente. Los anticuerpos monoclonales se consiguen seleccionando un clon de células B que produce un anticuerpo específico, que reacciona exclusivamente con un determinante antigénico de la molécula extraña. Esta especificidad disminuye las reacciones frente a epitopos comunes que se expresan en diferentes moléculas, en ocasiones de forma muy habitual, y que darían lugar a reactividades cruzadas².

En la producción de un mAb de carácter terapéutico existen cuatro pasos decisivos: la elección de la molécula diana, la selección del epitopo de esa molécula, la generación del anticuerpo y el proceso de ingeniería genética para su uso humano³. El desarrollo técnico de los últimos años ha facilitado muchos de estos pasos, encontrándose la mayor dificultad en la selección de la molécula diana. Aunque una revisión exhaustiva de estos pasos está fuera de la perspectiva de esta publicación, se hará un resumen de los mismos para mejor entendimiento de estos nuevos fármacos.

Selección de la diana.

La selección de la molécula a neutralizar por el mAb suele ser el paso más difícil de todo el proceso. Para ello se precisa el conocimiento más detallado posible de las vías patológicas que afectan a cada enfermedad. Por otra parte, la diana no puede ser una molécula que desarrolle un papel fisiológico relevante.

En las enfermedades inflamatorias, como el asma, la diana ideal es aquella molécula que se sitúa en el inicio de la cascada de mediadores, citocinas y otras proteínas biológicamente activas. El mAb Omalizumab (Xolair®), que bloquea la IgE libre (figura 1), es buen ejemplo al respecto.

En las enfermedades tumorales el escenario ideal sería aquel que permitiera reconocer una molécula que sólo se expresara en las células neoplásicas y fuese responsable de

su replicación. En la práctica, se utilizan mAbs que bloquean dianas expresadas en exceso en las células tumorales y que tienen un efecto mínimo sobre células no neoplásicas, o efectos que puedan ser controlables. Un ejemplo de esta última situación es el receptor del factor de crecimiento epidérmico humano (HER-2), sobre-expresado en el carcinoma de mama y reconocido por el mAb Trastuzumab (Herceptin®)⁴.

Selección del epitopo.

Una vez seleccionada la molécula diana suelen existir dos posibilidades para bloquear su acción. Un mAb que inactive la propia molécula o un mAb que inactive su receptor en la membrana celular. La elección depende de la biología del sistema. Por otra parte, el epitopo ha de ser lo más específico posible de la molécula diana, ya que con frecuencia hay epitopos compartidos con otras moléculas que pueden tener un papel fisiológico relevante y que sería dañino bloquear.

Producción del anticuerpo.

Aunque ya existe la técnica para la producción de mAbs de origen exclusivamente humano, la mayoría de los disponibles y muchos de los que actualmente están en desarrollo, son de procedencia animal, especialmente de pequeños roedores.

Una vez que se determina cuál es la molécula diana a neutralizar, y cuál su epitopo más específico, se inyecta al animal el epitopo o una fracción molecular que incluya al mismo. El sistema inmunológico del animal, en concreto algunos clones de sus linfocitos B, iniciarán la producción de anticuerpos frente a ese determinante antigénico, el cultivo celular de estos linfocitos será la fuente del mAb. Sin embargo, el cultivo de las células B apenas se puede mantener pocos días en el laboratorio. Por ello, se han desarrollado técnicas que permiten tener un cultivo celular "inmortal" por transformación viral de las células B aisladas y/o fusión de las mismas con células neoplásicas, histocompatibles, derivadas de diversas líneas celulares monoclonales procedentes de mieloma múltiple. El cultivo de estas células híbridas derivadas del linfocito B y la célula del mieloma, se conoce como "hibridoma" y constituye una fuente inagotable de anticuerpos monoclonales con la estructura molecular de una inmunoglobulina⁵. En 1984, se concedió

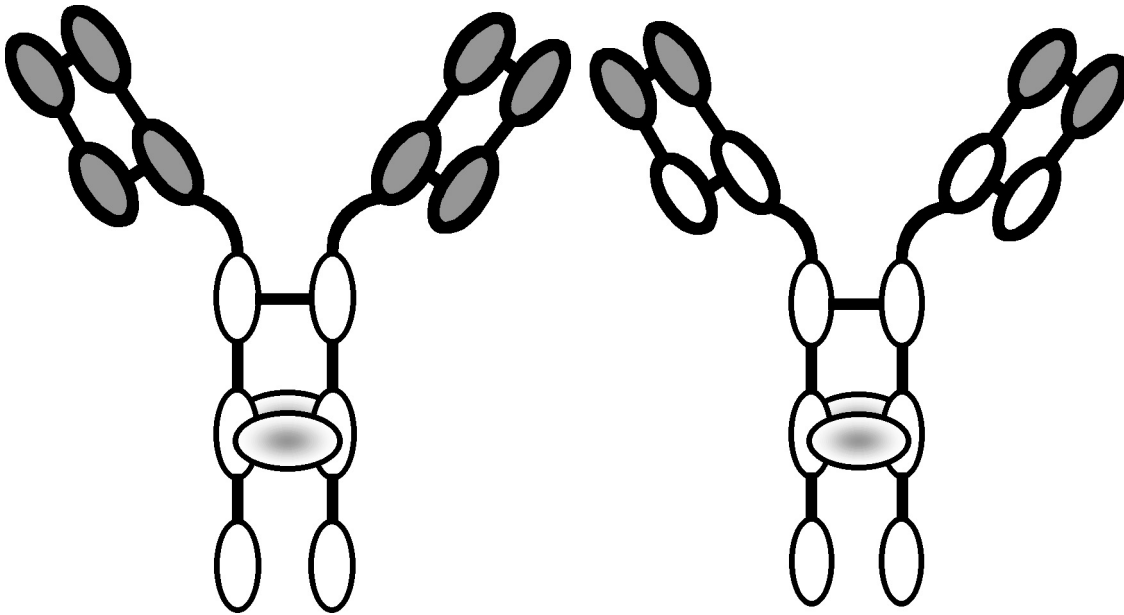


Figura 2. A la izquierda anticuerpo monoclonal (mAb) quimerizado, toda la región *Fab* es de origen animal. A la derecha mAb humanizado, sólo las estructuras terminales de la región *Fab* (las que reconocen a la molécula diana) son de procedencia animal. Círculos blancos: procedencia humana. Círculos grises: procedencia animal.

el Premio Nobel de Medicina a los científicos que desarrollaron la tecnología del hibridoma y facilitaron la producción comercial de mAbs.

Optimización del anticuerpo.

Los mAbs procedentes del hibridoma son proteínas demasiado extrañas para el sistema inmunitario humano y su utilización origina reacciones adversas de tipo anafiláctico: fiebre, escalofríos, disnea, hipotensión y edema pulmonar. Por eso, su uso terapéutico fue muy limitado, ciñéndose inicialmente al mAb anti-CD3 (OKT3®) utilizado para evitar el rechazo del trasplante renal. Sin embargo, estos mAbs "crudos" han supuesto un gran avance como reactivos de alta especificidad para los laboratorios clínicos y en los estudios histológicos para, unidos a un marcador determinado, señalar y cuantificar proteínas muy específicas.

Para hacer los mAbs más "amistosos" al sistema inmunitario humano se han desarrollado diferentes técnicas, especialmente dos: la quimerización y la humanización del mAb. Se entiende por mAb quimerizado aquel mAb, manipulado en el laboratorio, en el que la porción Fc, habitualmente de

origen murino, se sustituye por otra correspondiente a una IgG1 o IgG4 humana; de forma que, sólo la porción Fab pertenece al animal de laboratorio. Mientras que un mAb humanizado sustituye aproximadamente el 90 % de las proteínas del animal, manteniendo la porción proteica del animal sólo en los terminales de las cadenas ligeras de la porción Fab, el mínimo imprescindible para que el anticuerpo reconozca a la molécula diana³ (figura2).

Anticuerpos monoclonales en el tratamiento del asma

La respuesta Th2, con su conjunto IgE/eosinofilia, es responsable del desarrollo de reacciones de hipersensibilidad tipo I, y en concreto de enfermedades respiratorias de carácter atópico como la rinitis, el asma o la aspergilosis broncopulmonar alérgica⁶⁻⁸. Este tipo de reacción también ha sido descrito en diversos modelos animales⁹. Toda la cascada inflamatoria se inicia con el proceso de sensibilización, en el que las células dendríticas presentan los alérgenos al sistema inmunitario que, en sujetos genética-

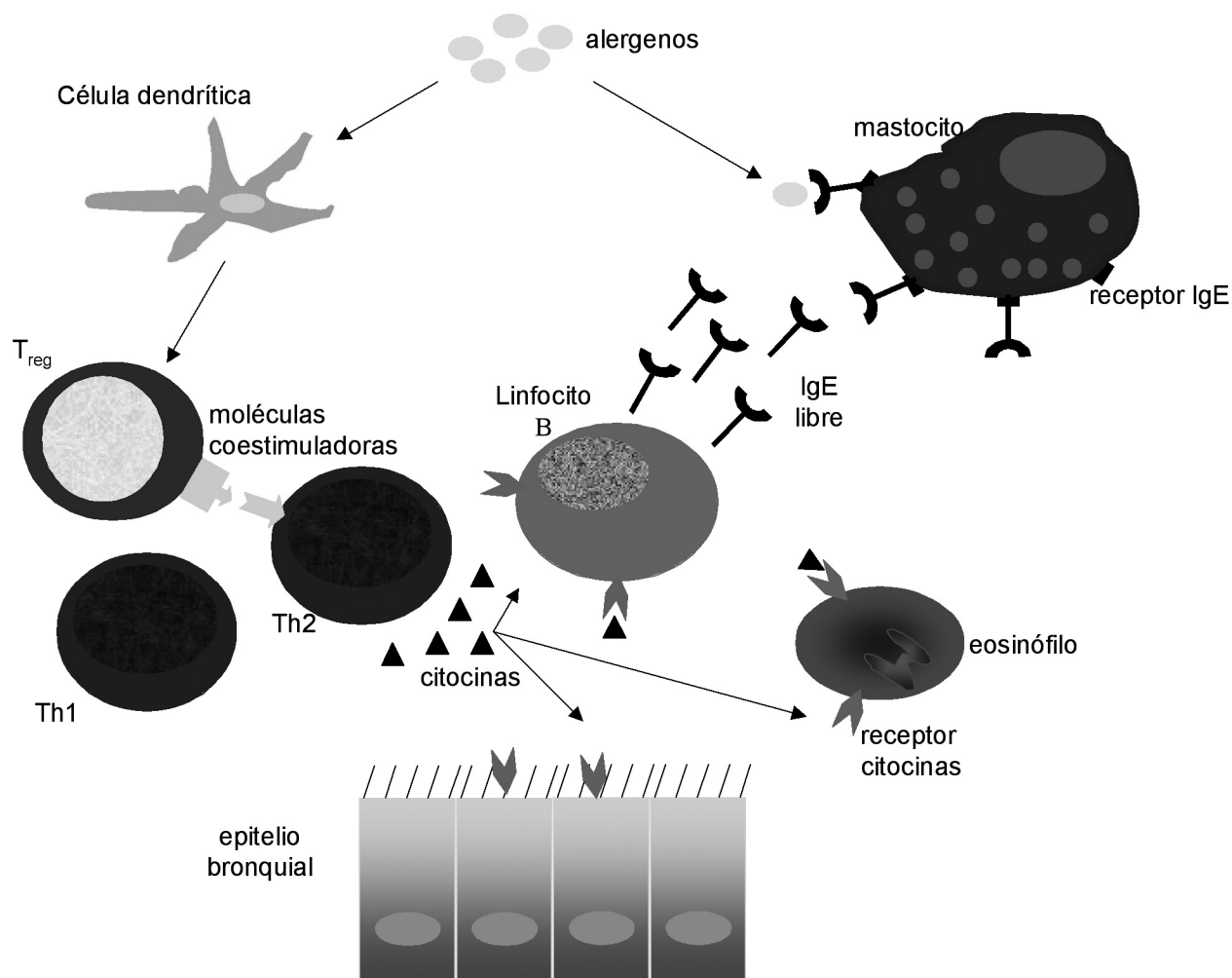


Figura 3. Mecanismos etiopatogénicos de la inflamación bronquial en el asma.

mente predispuestos, da origen a la diferenciación linfocitaria tipo Th2. Una vez sensibilizado, futuras exposiciones al alérgeno provocan la inflamación bronquial por liberación de citocinas y mediadores, especialmente por parte de los mastocitos. La figura 3 sintetiza los mecanismos arriba expresados y los posibles puntos de acción de terapéutica con mAbs.

Anti IgE (omalizumab).

Omalizumab es un anticuerpo monoclonal murino, humanizado, que reconoce como epítopo el dominio Cε3 de la IgE humana. Esta molécula resulta una diana ideal por cumplir tres condicionantes básicos: su incremento tiene una alta prevalencia en el asma, no se conoce un papel benefactor de la misma, y se sitúa en el inicio de las reacciones que po-

nen en marcha la cascada inflamatoria bronquial¹⁰. Aunque la elevación de la IgE sérica se ha ligado siempre al asma asociada a atopia, en menor cuantía pero de forma significativa también se incrementa en los asmáticos no alérgicos¹¹.

La estructura de la IgE la componen dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, la zona donde se sitúan estas últimas se conoce como región Fab y constituye el área variable de la inmunoglobulina y la zona de reconocimiento del alérgeno. La región constante, conocida como Fc, está constituida exclusivamente por las cadenas pesadas; en ella se aloja el dominio Cε3, punto de unión de la IgE con sus receptores específicos de membrana presentes en diferentes estirpes celulares (figura 1). Mastocitos y basófilos tienen en su superficie receptores de alta afinidad para la IgE (FcεRI),



<u>Nombre genérico</u>	<u>Nombre comercial</u>	<u>Diana molecular</u>	<u>Indicación</u>
Muronomab- CD3	OKT3	CD3	Trasplante renal
Abciximab	ReoPro	Integrina $\alpha 11\beta 3$	Complicaciones cardiacas isquémicas
Rituximab	Rituxan	CD20	Linfoma no Hodgkin
Basiliximab	Simulect	IL-2R α	Trasplante renal
Infliximab	Remicade	TNF- α	Artritis reumatoide y enfermedad de Crohn
Daclizumab	Zenapax	CD25 (IL-2R)	Trasplante renal
Trastuzumab	Herceptin	HER-2	Cáncer de mama
Palivizumab	Synagis	Proteína F del VSR	Infección por virus sincitial respiratorio
Gentuzumab	Mylotarg	CD33	Leucemia mieloide aguda
Alemtuzumab	Campath	CD52	Leucemia linfocítica crónica
Ibritumomab	Zevalin	CD20	Linfoma no Hodgkin
Omalizumab	Xolair	IgE	Asma
Efalizumab	Raptiva	CD11a	Psoriasis
Adalimumab	Humira	TNF- α	Artritis reumatoide
Tositomumab	Bexxar	CD20	Linfoma no Hodgkin
Bevacizumab	Avastin	FCEV	Cáncer colo-rectal
Cetuximab	Erbitux	Receptor del FCE	Cáncer colo-rectal

Tabla I. Anticuerpos monoclonales utilizados como fármacos y autorizados por la FDA. Ordenados por antigüedad de disponibilidad. FCEV, factor de crecimiento endotelial vascular. FCE, factor de crecimiento epidérmico.

mientras que los eosinófilos y linfocitos B están dotados de receptores de baja afinidad (Fc ϵ RII, también conocidos como CD23).

Gran parte de la estructura proteica de la IgE comparte epitopos con otras inmunoglobulinas. Sin embargo el dominio C ϵ 3 tiene especificidad propia y su bloqueo resulta de especial interés para anular la acción de la IgE. En otras palabras, este dominio es el epitopo ideal porque su inactivación impide la unión de la IgE con sus receptores celulares^{10,12}. Se trata del primer anticuerpo monoclonal comercializado para el tratamiento del asma, siendo el único autorizado en enfermedades respiratorias¹³.

La IgE libre tiene una vida media muy corta, en gran medida por ligarse rápidamente a los receptores celulares, por ello resulta muy activa biológicamente aún en muy bajas concentraciones. La activación alérgica de la IgE unida a receptores celulares, por medio de los receptores Fc ϵ RI, provoca la liberación de mediadores de la inflamación tanto preformados como sintetizados de novo. Por ello, la inha-

lación de alérgenos en asmáticos sensibilizados provoca obstrucción temprana y tardía de las vías aéreas y caída del FEV₁. Además, la IgE regula la producción de sus propios receptores celulares^{10,14}.

Efectos de omalizumab in vitro. El primer estudio con omalizumab en humanos demostró que la concentración sérica de IgE libre descendía rápidamente tras la administración intravenosa del fármaco¹⁵. Sin embargo, este efecto no se puede constatar en la práctica clínica diaria porque los métodos comerciales para cuantificar la IgE sérica no diferencian entre la IgE libre e la IgE bloqueada por omalizumab. Las pruebas previas mostraban que tanto la IgE libre como la exposición a alérgenos regulaban la expresión excesiva de los receptores celulares de IgE^{16,17}. Estas pruebas se han visto ratificadas en estudios de individuos tratados con omalizumab en los que se ha demostrado que este fármaco disminuye un 93% los receptores Fc ϵ RI de los basófilos¹⁸. Por otra parte, este mismo hallazgo se manifestó en biopsias bronquiales de enfermos asmáticos tratados con omalizumab. En las que, además, se puso de manifiesto el



descenso de otros marcadores de la inflamación relacionados a la IgE: IL-4, proteína catiónica de los eosinófilos y la propia IgE ligada a sus receptores celulares¹⁹.

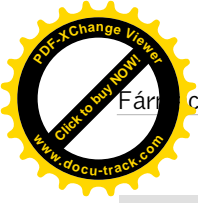
Efectos clínicos de omalizumab. La administración del fármaco consigue disminuir la respuesta cutánea frente a alérgenos. En un estudio con 47 pacientes afectados de rinitis alérgica con sensibilización a ácaros se puso de manifiesto que, después de 6 meses de tratamiento con omalizumab el área media de la reacción cutánea descendió de forma significativa, de $181 \pm 42 \text{ mm}^2$ a $61 \pm 15 \text{ mm}^2$ ²⁰. En cuanto al impacto que esta terapéutica tiene sobre la hiperrespuesta bronquial, los resultados han sido contradictorios. En un estudio de 46 asmáticos tratados con omalizumab durante 16 semanas, no se evidenció cambio en la PC₂₀ de la prueba de metacolina¹⁹. En otro estudio para evaluar la respuesta temprana frente a la provocación inhalatoria con alérgenos, en 20 pacientes adultos, aquellos que siguieron el tratamiento con omalizumab precisaron mayor cantidad de alérgeno que la que requerían previamente para producirles una caída del 15% del FEV₁ (PC15)²¹. Otros investigadores han medido la caída del FEV₁, temprana y tardía, tras la inhalación de alérgenos. Los tratados con omalizumab disminuyeron de forma significativa el descenso del FEV₁ en ambas respuestas²². En lo que se refiere a la rinitis alérgica, todos los estudios ponen de manifiesto una buena respuesta al omalizumab. La publicación con mayor casuística, 536 enfermos con rinitis estacional, puso en evidencia una mejoría clínica de los enfermos tratados²³. Otro estudio de carácter clínico, con pacientes alérgicos al polen de abedul, ha demostrado que, durante la estación polínica, los enfermos tratados con omalizumab tuvieron menos síntomas y mejor calidad de vida que los tratados con placebo (24). El mismo grupo de investigadores ha demostrado que este tipo de enfermos, en la época de mayor polinización, no incrementan la población de eosinófilos en la mucosa nasal a diferencia de lo que ocurre en los no tratados²⁵.

En un total de 405 enfermos con asma y rinitis alérgica concomitante, el tratamiento con omalizumab mejoró la calidad de vida en ambos aspectos de la enfermedad²⁶. Además, la respuesta nasal frente a alérgenos se inhibe en los pacientes tratados frente al grupo placebo, tanto midiendo la respuesta desde el punto de vista clínico como a través de los marcadores de la inflamación en el líquido del lavado nasal²⁷. Aunque la mayoría de los estudios se han realizado

en pacientes con rinitis estacional, se han encontrado hallazgos similares en la rinitis alérgica perenne²⁸.

Pero la indicación principal del fármaco es el asma asociada a atopia, con incremento de la IgE sérica. Uno de los primeros estudios con enfermos asmáticos demostró que la puntuación de síntomas diarios fue menor en los enfermos que siguieron tratamiento con omalizumab frente a los tratados con placebo. En este estudio, los enfermos padecían asma persistente moderada o grave y todos seguían tratamiento con glucocorticoesteroides (GCE) inhalados u orales y, aunque la diferencia no fue significativa, fueron más los enfermos que pudieron abandonar los GCE en el grupo activo que en el grupo placebo¹⁵. Sin embargo, en otra publicación con una población de asmáticos de la misma gravedad y mayor número, 546 enfermos, se demostró, de forma muy significativa, que omalizumab era muy útil en la reducción de dosis de los GCE inhalados²⁹. En un estudio pediátrico, en niños asmáticos entre 6 y 12 años, se objetivó una mejoría en los parámetros de calidad de vida, sin complicaciones significativas³⁰.

Sin embargo, parece que el mayor beneficio se obtiene en los pacientes con asma asociada a atopia y de carácter persistente grave. Son múltiples las publicaciones al respecto. En este sentido, el fármaco se ha mostrado eficaz en enfermos con asma de alto riesgo por su necesidad reciente de tratamiento en urgencias o historia de intubación traqueal, reduciendo significativamente el número de agudizaciones³¹. Además, en este tipo de asmáticos, reduce la tasa anual de hospitalización³². Esta impresión se confirmó en un reciente análisis de los factores de predicción de buena respuesta al tratamiento con omalizumab: el fármaco era más eficaz en sujetos con alto consumo de GCE inhalados, en aquellos con visitas frecuentes a servicios de urgencias y en aquellos con peor función respiratoria³³. En un estudio que agrupa ensayos clínicos de método similar, en los que el 93% de los pacientes cumplían criterios de asma persistente grave, analizando 4.308 enfermos de los que 2.511 fueron tratados con omalizumab, se puso de manifiesto de forma significativa la disminución de la tasa de exacerbaciones por asma y de la frecuentación de los servicios de urgencias. Además, el análisis de subgrupos pone en evidencia que la mejoría es mayor en los enfermos que tienen mayor tasa de IgE, los que tienen peor FEV₁ y los más jóvenes³⁴. Aún no hay publicaciones acerca de la utilidad del fármaco en el as-



IgE sérica previa al tratamiento (IU/mL)	Peso corporal en Kg			
	30-60	> 60-70	> 70-90	>90-150
≥ 30-100	150	150	150	300
> 100-200	300	300	300	
> 200-300	300	VER TABLA III		
> 300-400				
> 400-500				
> 500-600				

Tabla II. ADMINISTRACIÓN MENSUAL de Xolair®, en mg, por vía subcutánea. Dosis para mayores de 12 años con asma.

nos, siendo eliminados por los leucocitos y el sistema reticuloendotelial tras su unión a los receptores de IgG (FcγR) de la membrana celular^{36,37}. En los miles de enfermos tratados que figuran en las publicaciones médicas, no se ha descrito ningún caso de enfermedad por inmunocomplejos ni alteraciones de la función renal.

IgE sérica previa al tratamiento (IU/mL)	Peso corporal en Kg			
	30-60	> 60-70	> 70-90	>90-150
≥ 30-100	VER TABLA II			
> 100-200				
> 200-300		225	225	300
> 300-400	225	225	300	
> 400-500	300	300	375	
> 500-600	300	375	SIN DOSIS	
>600-700	375			

Tabla III. ADMINISTRACIÓN QUINCENAL de Xolair®, en mg, por vía subcutánea. Dosis para mayores de 12 años con asma.

Por otra parte, una vez unida a los receptores celulares, la IgE sufre una transformación espacial para favorecer el reconocimiento del alérgeno. Esta transformación espacial también afecta al dominio Cε3, haciéndolo irreconocible para omalizumab. Esto supone una situación ventajosa desde el punto de vista terapéutico ya que la unión de omalizumab al Cε3 libre

ocupacional, aunque parece ser útil en otras manifestaciones atópicas relacionadas con la actividad labora³⁵.

Farmacocinética y dosificación de omalizumab. Como quiera que el dominio Cε3 está expresado a ambos lados de la IgE, el bloqueo de uno de ellos por omalizumab aún permite el enclavamiento de la IgE a los receptores celulares, por el otro lado de la molécula. De manera que cada molécula libre de IgE ha de ser bloqueada por dos moléculas de omalizumab. Esta proporción condiciona la formación de trímeros y, en menor cuantía, hexámeros. No obstante, en ningún caso, estos compuestos tienen capacidad para fijar el complemento y carecen de poder como inmunopatóge-

bre del otro lado de la IgE, consumiría gran cantidad del fármaco y no impediría la liberación celular de mediadores de la inflamación. Así pues, omalizumab, sólo se puede unir a la IgE libre y no a la enclavada en sus receptores celulares^{38,39}.

El omalizumab se presenta en inyectables precargados de 75 y 150 mg. La dosis, quincenal o mensual, se calcula en relación con el peso y el nivel sérico de IgE (tabla II y III) sobre la formula: 0,016 mg/kg / IgE (IU/mL). Aunque se han realizado algunos estudios para administrar el omalizumab en forma de aerosol esta vía de administración aún no está reconocida⁴⁰.



Efectos adversos. En un estudio para valorar la seguridad de omalizumab en niños, se analizaron a largo plazo 225 pacientes de 6 a 12 años de edad entre los que sólo 11 tuvieron algún episodio de urticaria bien controlada con antihistamínicos y sólo en uno de ellos fue necesaria la retirada del fármaco⁴¹.

Otro ensayo clínico en el que se formaron tres grupos, uno tratado con altas dosis, otro con dosis bajas y un grupo placebo, con un centenar de pacientes en cada grupo, el análisis de los efectos adversos no mostró diferencias significativas entre ellos. No obstante, hubo 14 casos de urticaria entre los que recibieron tratamiento y 3 en el grupo placebo. Ninguno de ellos desarrolló anticuerpos frente a omalizumab¹⁵.

De 4.127 enfermos tratados con Omalizumab, 0,5% desarrollaron algún proceso maligno, de diferentes estirpes, frente al 0,2% en 2.236 pacientes controles. Aunque esta cifra resultó estadísticamente significativa, un grupo independiente de oncólogos ha descartado una relación clínica entre el fármaco y los tumores. A esta conclusión llegaron analizando las diferentes estirpes tumorales identificadas y el tiempo necesario para el desarrollo del tumor atendiendo a la historia natural de cada uno⁴².

Basados en el conocimiento actual de las funciones biológicas de la IgE, sólo cabe pensar que su bloqueo pudiese empeorar una enfermedad parasitaria preexistente. Sin embargo, las pruebas, en experimentación animal, parecen apuntar que el descenso de la IgE también ayudaría a resolver las parasitosis helmínticas^{43,44}. Estudios en humanos, orientan hacia la inocuidad de omalizumab para incrementar el riesgo de infestación en poblaciones con alta exposición a helmintos⁴⁵.

Uno de los inconvenientes de omalizumab es su alto precio. Este inconveniente es común a todos los mAbs por el alto costo de su producción. Este condicionante ha hecho que los servicios nacionales de salud restrinjan su indicación para casos de asma grave. En Estados Unidos, se ha estimado un ahorro notorio en aquellos enfermos que tuviesen ingresos hospitalarios superiores a 20 días al año^{46,47}.

Anti interleucina-4.

La IL-4 es una de las citocinas que define el fenotipo Th2. Su acción induce una serie de efectos biológicos de especial

relevancia en la etiopatogenia del asma: producción de IgE por los linfocitos B, incremento de la expresión de los receptores de IgE en los mastocitos, incremento de las moléculas de adhesión en el endotelio vascular y producción de eotaxina. Además, juega un papel en el remodelado bronquial por aumentar la producción de fibroblastos y células caliciformes bronquiales⁴⁸. Han existido varios intentos de bloquear la IL-4. Uno de ellos ha sido la producción de un receptor soluble, altrakincept, que bloquea la interacción de la IL-4 con su receptor de membrana (IL-4R) y que se ha administrado por nebulización⁴⁹. Aunque algunos ensayos en fase I y II resultaron prometedores, dos ensayos posteriores en fase III fueron interrumpidos por ineficacia clínica⁵⁰.

Pascalizumab es un mAb, humanizado, anti IL-4. La escasa experiencia que se tiene con él no ha sido satisfactoria⁵¹. El desarrollo de un mAb anti receptor de IL-4 (IL-4R α) podría tener especial interés ya que este receptor se comparte con la IL-13. Este rasgo común podría proporcionar a este mAb un efecto sinérgico en el tratamiento del asma⁵².

Anti interleucina-5.

La IL-5, otra citocina de las que definen el patrón Th2, parece especialmente diseñada para el control de la población eosinófila. Regula el tráfico de eosinófilos: incrementando su producción en médula ósea, actuando en su quimiotaxis e incrementando su supervivencia⁵³. Se han desarrollado dos mAbs humanizados para bloquear la IL-5: mepolizumab un anticuerpo IgG1 y el SCH55700, humanizado sobre una IgG4.

Los ensayos clínicos con mepolizumab no han sido satisfactorios, porque aunque disminuye la cifra de eosinófilos circulantes, ha sido incapaz de modificar la respuesta tardía en el asma, así como la hiperrespuesta bronquial⁵⁴. Tampoco disminuye la infiltración eosinófila de la pared bronquial⁵⁵. No obstante, se le ha reconocido algún efecto beneficioso de carácter marginal⁵⁶. Un estudio con SCH55700 obtuvo los mismos resultados clínicos que los previos con mepolizumab⁵⁷. Se especula que con mayores dosis intravenosas e incluso con dosificación inhalada podrían alcanzarse mejores resultados. Por otra parte, hay que considerar que aunque la IL-5 es la señal más potente para inducir la infiltración eosinófila de la pared bronquial, existen otras citocinas que también controlan la infiltración eosinófila, como la IL-3, la eotaxina y el factor estimulan-



te de las colonias de granulocitos y macrófagos⁵⁰. En el futuro se determinará si el bloqueo exclusivo de la IL-5 será suficiente para la depleción eosinófila o se precisarán terapias combinadas.

Anti Interleucina-13.

Esta citocina, relacionada con la hiperrespuesta bronquial, la hipersecreción mucosa y el remodelado bronquial, aparte de compartir receptor con IL-4, tiene su propio receptor de membrana de alta afinidad (IL-13R α 1). Un ensayo reciente, aún en prensa, con un anticuerpo monoclonal anti interleucina-13 (lebrizumab) ha mejorado la función pulmonar en pacientes con asma de difícil control⁵⁸.

Anti factor de necrosis tumoral α (TNF- α).

El TNF- α es un potente mediador de la inflamación que se libera de la mayoría de las células implicadas en la patología del asma. Hay pruebas que muestran que la expresión del TNF- α en las vías aéreas se relaciona con la gravedad del asma⁵⁹. Existen dos maBs ampliamente utilizados en la artritis reumatoide, infliximab y adalimumab. Además, se ha desarrollado un receptor soluble, etanercept, para bloquear el TNF- α antes de su unión a los receptores de membrana celular. Observaciones clínicas previas habían señalado que aquellos enfermos con artritis reumatoide y asma mejoraban de ambas enfermedades cuando eran tratados con fármacos anti TNF- α ⁶⁰. Un estudio, no controlado con etanercept puso en evidencia una mejoría de la hiperrespuesta bronquial en asmáticos graves con corticodependencia⁵⁹. Recientemente, otro estudio ha puesto de manifiesto que el tratamiento con etanercept en pacientes con asma moderada incrementa la cantidad de metacolina necesaria para una caída del 20% del FEV1 (PC20) y mejora la calidad de vida de los asmáticos⁶¹. No obstante, bloquear la acción del TNF- α desajusta los mecanismos de defensa frente a infecciones respiratorias y favorece la reactivación de la tuberculosis pulmonar⁶². Esta posibilidad obliga a ser cautelosos en la indicación de este tipo de terapéutica en aquellos asmáticos con frecuentes agudizaciones de carácter infeccioso.

Otros anticuerpos monoclonales y receptores solubles.

Existen otros mAbs, aprobados para otras enfermedades, que teóricamente podrían jugar un papel interesante en el

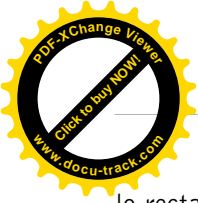
asma. Uno de ellos, efalizumab, aprobado para su uso en psoriasis, bloquea las interacciones de las moléculas de adhesión linfocitarias y podría evitar la atracción de diversas líneas celulares a la pared bronquial secundaria a la acción de las citocinas Th2. Un único ensayo con este fármaco consiguió una disminución de eosinófilos activados en el esputo de un pequeño grupo de asmáticos pero no mejoró los parámetros clínicos de la enfermedad⁶³. No obstante, la inhibición de las moléculas de adhesión celular puede alterar importantes vías fisiológicas y ocasionar graves efectos adversos; tal como ocurrió con el natalizumab en el tratamiento de la esclerosis múltiple, que tuvo que ser retirado en un ensayo clínico por relacionarlo con una leucoencefalopatía progresiva multifocal⁶⁴. Otra de las posibilidades futuras es el bloqueo de moléculas intracelulares como los factores de transcripción, que son capaces de activar o inhibir genes que juegan un papel destacado en el asma. En este campo, existen algunos estudios con receptores solubles. No obstante, esta posibilidad no ha pasado de la experimentación animal^{65,66}.

Otra diana atractiva para el diseño de futuros mAbs son las moléculas coestimuladoras, especialmente aquellas encargadas de regular las relaciones intercelulares de los linfocitos. En concreto, aquellas formadas de novo y específicas de los linfocitos Th2 activados, especialmente las conocidas como ICOS y OX40. Esta actuación podría impedir la producción de citocinas de especial relevancia en el asma⁶⁷.

Anticuerpos monoclonales en el tratamiento del cáncer de pulmón

El empleo de mAbs en el cáncer de pulmón no se ha desarrollado tanto como en el asma. Hasta la actualidad se han realizado algunos ensayos clínicos en el carcinoma de pulmón no de células pequeñas (NSCLC, en su acepción internacional). Han sido dos los mAbs mejor estudiados en este campo: cetuximab (Erbix®) y bevacizumab (Avastin®).

Cetuximab es un mAb murino, quimerizado, que inactiva el receptor celular del factor de crecimiento epidérmico, sobre-expresado en una amplia variedad de tumores sólidos, entre ellos el NSCLC, y responsable de la progresión tumoral. Este fármaco, aceptado en el tratamiento del cáncer co-



lo-rectal, y que ha sido útil en el tratamiento del carcinoma epidermoide de cabeza y cuello⁶⁸, ha mostrado resultados esperanzadores en pacientes con NSCLC; tanto en combinación con quimioterapia como con radioterapia^{69,70}.

Bevacizumab es un mAb con actividad anti factor de crecimiento vascular endotelial (anti-VEFG, en su acepción internacional). Su utilización en NSCLC, junto con quimioterapia, ha demostrado un incremento significativo en la supervivencia cuando se comparaba con sólo quimioterapia. No obstante, la intervención de este mAb en el desarrollo vascular del tumor ha originado hemoptisis graves en una serie de casos, lo que ha aconsejado interrumpir el tratamiento⁷¹.

Otros mAbs como el trastuzumab y pertuzumab se están estudiando en la actualidad en diferentes ensayos clínicos^{72,73}. Las perspectivas futuras incluyen mAbs que reconociendo epitopos exclusivos de algunos tumores pudiesen, unidos a un fármaco citotóxico, actuar selectivamente sobre las células tumorales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Liossis SN, Tsokos GC. Monoclonal antibodies and fusion proteins in medicine. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;116:721-9.
2. Nelson PN, Reynolds GM, Waldron EE, Ward E, Giannopoulos K, Murray PG. Monoclonal antibodies. *J Clin Pathol: Mol Pathol.* 2000;53:111-7.
3. Presta LG. Selection, design, and engineering of therapeutic antibodies. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;116:731-6.
4. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science.* 1987;235:177-82.
5. Breedveld FC. Therapeutic monoclonal antibodies. *Lancet.* 2000;355:735-40.
6. Burrows B, Martinez FD, Halonen A, Barbee RA, Cline MG. Association of asthma with serum IgE levels and skin test reactivity to allergens. *N Engl J Med.* 1989;320:271-7.
7. Sears MR, Burrows B, Flannery EM, Herbison GP, Hewitt CJ, Holdaway MD. Relation between airway responsiveness and serum IgE in children with asthma and in apparently normal children. *N Engl J Med.* 1991;325:1067-71.
8. Greenberger PA. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;110:685-92.
9. Torres R, Picado C, de Mora F. Descubriendo el asma de origen alérgico a través del ratón. Un repaso a la patogenia de los modelos de asma alérgica en el ratón y su similitud con el asma alérgica humana. *Arch Bronconeumol.* 2005;41:141-52.
10. Oettgen HC, Geha RS. IgE in asthma and atopy: cellular and molecular connections. *J Clin Invest.* 1999;104:829-35.
11. Beeh KM, Ksoll M, Buhl R. Elevation of total serum immunoglobulin E is associated with asthma in nonallergic individuals. *Eur Respir J.* 2000;16:609-14.
12. Presta LG, Lahr SJ, Shields RL et al. Humanization of an antibody directed against IgE. *J Immunol.* 1993;151:2623-32.
13. Easthope S, Jarvis B. Omalizumab. *Drugs.* 2001;61:253-60.
14. Saini SS, MacGlashan DW Jr, Sterbinsky SA et al. Down-regulation of human basophil IgE and FC epsilon RI alpha surface densities and mediator release by anti-IgE-infusions is reversible in vitro and in vivo. *J Immunol.* 1999;162:5624-30.
15. Milgrom H, Fick RB Jr, Su JQ et al. Treatment of allergic asthma with monoclonal anti-IgE antibody. rhuMAb-E25 Study Group. *N Engl J Med.* 1999;341:1966-73.
16. Malveaux FJ, Conroy MC, Adkinson NF Jr, Lichtenstein LM. IgE receptors on human basophils. Relationship to serum IgE concentration. *J Clin Invest.* 1978;62:176-81.
17. Rajakulasingam K, Till S, Ying S et al. Increased expression of high affinity IgE (Fc epsilon RI) receptor-alpha chain mRNA and protein-bearing eosinophils in human allergen-induced atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158:233-40.
18. MacGlashan DW Jr, Bochner BS, Adelman DC et al. Down-regulation of Fc(epsilon)RI expression on human basophils during in vivo treatment of atopic patients with anti-IgE antibody. *J Immunol.* 1997;158:1438-45.
19. Djukanovic R, Wilson SJ, Kraft M et al. Effects of treatment with anti-immunoglobulin E antibody omalizumab on airway inflammation in allergic asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170:583-93.
20. Schulman ES. Development of a monoclonal anti-immunoglobulin E antibody (omalizumab) for the treatment of allergic respiratory disorders. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164:S6-11.
21. Boulet LP, Chapman KR, Cote J et al. Inhibitory effects of an anti-IgE antibody E25 on allergen-induced early asthmatic response. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;155:1835-40.
22. Fahy JV, Fleming HE, Wong HH et al. The effect of an anti-IgE monoclonal antibody on the early- and late-phase responses to allergen inhalation in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;155:1828-34.
23. Casale TB, Condemi J, La Force C et al. Omalizumab Seasonal Allergic Rhinitis Trial Group. Effect of omalizumab on symptoms of seasonal allergic rhinitis: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2001;286:2956-67.
24. Adelroth E, Rak S, Haahtela Tet al. Recombinant humanized mAb-E25, an anti-IgE mAb, in birch pollen-induced seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;106:253-9.
25. Plewako H, Arvidsson M, Petruson K et al. The effect of omalizumab on nasal allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol.*



2002;110:68-71.

26. Vignola AM, Humbert M, Bousquet J et al. Efficacy and tolerability of anti-immunoglobulin E therapy with omalizumab in patients with concomitant allergic asthma and persistent allergic rhinitis: SOLAR. *Allergy*. 2004;59:709-17.

27. Hanf G, Noga O, O'Connor A, Kunkel G. Omalizumab inhibits allergen challenge-induced nasal response. *Eur Respir J*. 2004;23:414-8.

28. Chervinsky P, Casale T, Townley R et al. Omalizumab, an anti-IgE antibody, in the treatment of adults and adolescents with perennial allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2003;91:160-7.

29. Soler M, Matz J, Townley R et al. The anti-IgE antibody omalizumab reduces exacerbations and steroid requirement in allergic asthmatics. *Eur Respir J*. 2001;18:254-61.

30. Lemanske RF Jr, Nayak A, McAlary M, Everhard F, Fowler-Taylor A, Gupta N. Omalizumab improves asthma-related quality of life in children with allergic asthma. *Pediatrics*. 2002;110:e55.

31. Holgate S, Bousquet J, Wenzel S, Fox H, Liu J, Castellsague J. Efficacy of omalizumab, an anti-immunoglobulin E antibody, in patients with allergic asthma at high risk of serious asthma-related morbidity and mortality. *Curr Med Res Opin*. 2001;17:233-40.

32. Corren J, Casale T, Deniz Y, Ashby M. Omalizumab, a recombinant humanized anti-IgE antibody, reduces asthma-related emergency room visits and hospitalizations in patients with allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111:87-90.

33. Bousquet J, Wenzel S, Holgate S, Lumry W, Freeman P, Fox H. Predicting response to omalizumab, an anti-IgE antibody, in patients with allergic asthma. *Chest*. 2004;125:1378-86.

34. Bousquet J, Cabrera P, Berkman N et al. The effect of treatment with omalizumab, an anti-IgE antibody, on asthma exacerbations and emergency medical visits in patients with severe persistent asthma. *Allergy*. 2005;60:302-8.

35. Leynadier F, Doudou O, Gaouar H et al. Effect of omalizumab in health care workers with occupational latex allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113:360-1.

36. Fox JA, Hotaling TE, Struble C, Ruppel J, Bates DJ, Schoenhoff MB. Tissue distribution and complex formation with IgE of an anti-IgE antibody after intravenous administration in cynomolgous monkeys. *J Pharmacol Exp Ther*. 1996;279:1000-8.

37. Liu J, Lester P, Builder S, Shire SJ. Characterization of complex formation by humanized anti-IgE monoclonal antibody and monoclonal human IgE. *Biochemistry*. 1995;34:10474-82.

38. Chang TW. The pharmacological basis of anti-IgE therapy. *Nat Biotechnol*. 2000;18:157-62.

39. Thomas D, Saban R, Jardieu P. Inhibition of allergic reactions with antibodies to IgE. *Int Arch Allergy Immunol*. 1995;107:308-12.

40. Fahy JV, Cockcroft DW, Boulet LP et al. Effect of aerosolized anti-IgE (E25) on airway responses to inhaled allergen in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160:1023-7.

41. Berger W, Gupta N, McAlary M, Fowler-Taylor A. Evaluation of

long-term safety of the anti-IgE antibody, omalizumab, in children with allergic asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2003;91:182-8.

42. Chiang DT, Clark J, Casale TB. Omalizumab in asthma: approval and postapproval experience. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2005;29:3-16.

43. Hagan P, Blumenthal UJ, Dunn D, Simpson AJ, Wilkins HA. Human IgE, IgG4 and resistance to reinfection with *Schistosoma haematobium*. *Nature*. 1991;349:243-5.

44. Amiri P, Haak-Frendscho M, Robbins K, McKerrow JH, Stewart T, Jardieu P. Anti-immunoglobulin E treatment decreases worm burden and egg production in *Schistosoma mansoni*-infected normal and interferon gamma knockout mice. *J Exp Med*. 1994;180:43-51.

45. Cooper PJ, Lima F, Sarinho EC et al. Safety of anti-IgE therapy with omalizumab in allergic patients at risk of geohelminth infection. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117 (suppl 2):S9.

46. Oba Y, Salzman GA. Cost-effectiveness analysis of omalizumab in adults and adolescents with moderate-to-severe allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114:265-9.

47. Humbert M, Beasley R, Ayres J et al. Benefits of omalizumab as add-on therapy in patients with severe persistent asthma who are inadequately controlled despite best available therapy (GINA 2002 step 4 treatment): INNOVATE. *Allergy*. 2005;60:309-16.

48. Steinke JW, Borish L. Th2 cytokines and asthma. Interleukin-4: its role in the pathogenesis of asthma, and targeting it for asthma treatment with interleukin-4 receptor antagonists. *Respir Res*. 2001;2:66-70.

49. Borish LC, Nelson HS, Lanz MJ et al. Interleukin-4 receptor in moderate atopic asthma. A phase I/II randomized, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160:1816-23.

50. Holgate ST. Cytokine and anti-cytokine therapy for the treatment of asthma and allergic disease. *Cytokine*. 2004;28:152-7.

51. Steinke JW. Anti-interleukin-4 therapy. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2004;24:599-614.

52. Wagelie-Steffen AL, Kavanaugh AF, Wasserman SI. Biologic therapies for the treatment of asthma. *Clin Chest Med*. 2006;27:133-47.

53. Greenfeder S, Umland SP, Cuss FM, Chapman RW, Egan RW. Th2 cytokines and asthma. The role of interleukin-5 in allergic eosinophilic disease. *Respir Res*. 2001;2:71-9.

54. Leckie MJ, ten Brinke A, Khan J et al. Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet*. 2000;356:2144-8.

55. Flood-Page PT, Menzies-Gow AN, Kay AB, Robinson DS. Eosinophil's role remains uncertain as anti-interleukin-5 only partially depletes numbers in asthmatic airway. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167:199-204.

56. Flood-Page P, Menzies-Gow A, Phipps S et al. Anti-IL-5 treatment reduces deposition of ECM proteins in the bronchial subepithelial basement membrane of mild atopic asthmatics. *J Clin Invest*. 2003;112:1029-36.



57. Kay AB, Klion AD. Anti-interleukin-5 therapy for asthma and hypereosinophilic syndrome. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2004;24:645-66.
58. Corren J, Lemanske RF, Hanania NA et al. Lebrikizumab Treatment in Adults with Asthma. *N Engl J Med.* 2011 Aug 3. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 21812663.
59. Howarth PH, Babu KS, Arshad HS et al. Tumour necrosis factor (TNFalpha) as a novel therapeutic target in symptomatic corticosteroid dependent asthma. *Thorax.* 2005;60:1012-8.
60. Khalil C, Brown D, Chumney-Malacara J, Crow J. Infliximab therapy for rheumatoid arthritis (RA) induced significant control of asthma in patients with both RA and asthma or asthma/COPD in addition to improving RA status. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;109:S243.
61. Berry MA, Hargadon B, Shelley M et al. Evidence of a role of tumor necrosis factor alpha in refractory asthma. *N Engl J Med.* 2006;354:697-708.
62. Imaizumi K, Sugishita M, Usui M, Kawabe T, Hashimoto N, Hasegawa Y. Pulmonary infectious complications associated with anti-TNFalpha therapy (infliximab) for rheumatoid arthritis. *Intern Med.* 2006;45:685-8.
63. Gauvreau GM, Becker AB, Boulet LP et al. The effects of an anti-CD11a mAb, efalizumab, on allergen-induced airway responses and airway inflammation in subjects with atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112:331-8.
64. Berger JR, Koralnik IJ. Progressive multifocal leukoencephalopathy and natalizumab—unforeseen consequences. *N Engl J Med.* 2005;353:414-6.
65. Desmet C, Gosset P, Pajak B et al. Selective blockade of NF-kappa B activity in airway immune cells inhibits the effector phase of experimental asthma. *J Immunol.* 2004;173:5766-75.
66. Holgate ST, Holloway J, Wilson S et al. Understanding the pathophysiology of severe asthma to generate new therapeutic opportunities. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;117:496-506.
67. Kroczek R, Hamelmann E. T-cell costimulatory molecules: optimal targets for the treatment of allergic airway disease with monoclonal antibodies. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;116:906-9.
68. Bonner JA, Harari PM, Giralt J et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med.* 2006;354:567-78.
69. Robert F, Blumenschein G, Herbst RS et al. Phase I/IIa study of cetuximab with gemcitabine plus carboplatin in patients with chemotherapy-naive advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23:9089-96.
70. Jensen AD, Munter MW, Bischoff H et al. Treatment of non-small cell lung cancer with intensity-modulated radiation therapy in combination with cetuximab: the NEAR protocol (NCT00115518). *BMC Cancer.* 2006;6:122.
71. Maione P, Gridelli C, Troiani T, Ciardiello F. Combining targeted therapies and drugs with multiple targets in the treatment of NSCLC. *Oncologist.* 2006;11:274-84.
72. Johnson BE, Janne PA. Rationale for a phase II trial of pertuzumab, a HER-2 dimerization inhibitor, in patients with non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2006;12:4436s-4440s.
73. Cappuzzo F, Bemis L, Varella-Garcia M. HER2 mutation and response to trastuzumab therapy in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2006;354:2619-21.

