



Volumen 2, Número3, Agosto 2004

Resúmenes SIIC

● LA FLUDARABINA SELECCIONA SUBCLONES MUTANTES DE p53 EN EL TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA LINFOCITICA CRONICA

Bethesda, EE.UU.

El tratamiento de los pacientes con leucemia linfocítica crónica con fludarabina tiene el potencial de seleccionar por extensión subclones mutantes de p53 que tendrían resistencia cruzada con otros agentes quimioterápicos.

Blood 1-24, May 2004

Autores:

Rosenwald A*, Chuang EY**, Davis RE* y colaboradores

Institución/es participante/s en la investigación:

*Metabolism Branch, **Radiation Biology Branch, Center for Cancer Research, National Cancer Institute, NIH, Bethesda, EE.UU.

Título original:

[Fludarabine Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia Patients Induces a p53-Dependent Gene Expression Response]

Título en castellano:

El Tratamiento con Fludarabina de los Pacientes con Leucemia Linfocítica Crónica Induce Respuesta de Expresión Genética Dependiente de p53

Introducción

Las terapias curativas para la leucemia linfocítica crónica de células B (LLC) no se encuentran todavía disponibles. El tratamiento con el análogo purínico fludarabina aumenta el índice de remisión completa, incrementa la sobrevida libre de progresión y la duración media de la respuesta clínica, pero no la sobrevida en pacientes con LLC no tratados previamente, en comparación con el tratamiento con clorambucilo sólo o con quimioterapia combinada. La terapia con fludarabina induce la apoptosis de los linfocitos quiescentes y en las células afectadas por LLC. Una variedad de estudios *in vitro* postulan los mecanismos subyacentes de esa muerte celular. Si bien las células en la LLC se encuentran predominantemente sin dividir, el trifosfato de fludarabina puede ser incorporado al ADN de las células LLC, posiblemente durante la síntesis de reparación del ADN. La ruptura inducida por el grupo de los análogos nucleósidos conduce a la activación de los genes blanco p53 y de sus dependientes; se ha sugerido que la inducción de la apoptosis mediada por p53 desempeña un papel central en la destrucción de las células en la LLC. El requerimiento de una vía intacta de p53 para la destrucción inducida por la fludarabina es un aspecto en discusión, dado que, por lo menos en algunos casos, la destrucción puede ocurrir de manera independiente de p53. La presencia de mutaciones de p53 en células LLC se asocia con disminución de la sobrevida y resistencia clínica al tratamiento con fludarabina. Sin embargo, debido a que la falta de p53 puede producir inestabilidad genómica, no resulta claro si la resistencia a la fludarabina es efecto directo de la inactivación de p53, o efecto indirecto de otras alteraciones genómicas en células LLC deficientes en p53. Pacientes y métodos Los 7 pacientes en el presente estudio de expresión de perfil genético *in vivo* no estaban tratados previamente, y recibieron fludarabina endovenosa en dosis diarias de 25 mg/m² durante 5 días, repetidas cada 28 días durante 6 ciclos. Todos los individuos lograron la remisión total, aunque el sexto ciclo de fludarabina no se pudo administrar en uno de ellos debido a la interurrencia con infarto de miocardio, y en otro se tuvo que suspender debido a hemólisis leve con prueba de Coombs positiva. Las células mononucleares se separaron por medio de centrifugación con gradientes de densidad, y las células leucémicas se

purificaron por selección magnética para CD19+ a 4° C. Se efectuó luego el cultivo celular, la secuenciación VH de inmunoglobulinas, la expresión de CD38, la citogenética y los procedimientos por microformación.

Resultados

En el momento del diagnóstico los pacientes tenían una media de edad de 56 años y estadio de enfermedad Rai I o II. El tiempo medio hasta el tratamiento fue de 27 meses desde el diagnóstico. Seis de los individuos tenían genes VH no mutados de inmunoglobulinas y requirieron tratamiento dentro de los 5 a 43 meses, y 1 paciente con genes mutados recibió tratamiento a los 115 meses del diagnóstico. Luego de la terapia con fludarabina todos los pacientes presentaron buena respuesta, mostraron disminución en los recuentos de glóbulos blancos periféricos y alcanzaron remisiones parciales. Cabe destacar, comentan los autores, que 7 de esos elementos de microformación representaron genes que son blanco documentado del factor de transcripción p53, que incluyeron p21, MDM2, DDB2, TNFRSF10B, PCNA y PPM1D. Estos datos sugieren que la administración *in vivo* de fludarabina induce respuesta transcripcional dependiente de p53 en las células LLC.

Discusión

Si bien la fludarabina es la droga más efectiva en administración única para inducir respuestas clínicas en la LLC, los cambios moleculares que ocurren en las células durante el tratamiento no habían sido completamente investigados. En general, los efectos *in vivo* de un agente quimioterápico no pueden ser reproducidos por los cultivos *in vitro* por varias razones; entre ellas, porque la concentración *in vivo* no es constante, y porque las células están sujetas a distintos estímulos inductores de la proliferación y antiapoptóticos. Además, la respuesta *in vitro* de las células en la LLC al tratamiento con drogas puede estar influida por mecanismos intracelulares no fisiológicos que producen apoptosis espontánea *in vitro*. Por estas razones se llevó a cabo el presente ensayo clínico, con el objetivo de identificar los cambios moleculares que ocurren en las células LLC durante el tratamiento efectivo. Los perfiles de expresión genética de las muestras de células de LLC durante la administración de fludarabina revelaron *in vivo* respuesta molecular relativamente moderada y estereotípica. En los 7 pacientes estudiados se observó sobreexpresión persistente de los objetivos transcripcionales conocidos de p53, tales como p21, MDM2, DDB2, TNFRSF10B, PCNA y PPM1D. Por otra parte, muchos de los otros genes inducidos *in vivo* por fludarabina fueron también inducidos *in vitro* por medio de radiación γ de manera dependiente de p53. En forma similar, el tratamiento *in vitro* con fludarabina indujo muchos de los genes *in vivo*, lo que demuestra que los cambios de expresión genética *in vivo* se debieron al efecto directo de la fludarabina sobre las células LLC. Además, en 1 paciente con resistencia clínica a fludarabina las células LLC no mostraron efecto citotóxico ni respuesta de expresión genética a fludarabina *in vitro*. Tomados en su conjunto estos datos sugieren que, en dosis estándar, la fludarabina induce respuesta de expresión genética mediada por p53. Estudios previos *in vitro* que investigaron el efecto de los análogos nucleósidos sobre las células LLC habían llegado a conclusiones variables respecto de la función de p53 en la respuesta apoptótica a los análogos purínicos como la fludarabina. Si bien los presentes resultados son coincidentes con la hipótesis que involucra a p53 en la apoptosis de las células LLC durante la administración *in vivo* de fludarabina, también es posible que participen los mecanismos independientes de p53. Sin embargo, cabe señalar que no se detectaron cambios importantes de la expresión genética *in vivo* que no pudieran ser asociados con la dependencia de p53, o con la respuesta dependiente de la acción sobre el ADN. Los estudios futuros deberían determinar si estos cambios en la expresión genética observados y dependientes de p53 son específicos de la respuesta al tratamiento con fludarabina o pueden aparecer en el curso de otras terapias como la administración de clorambucilo. Los presentes hallazgos, señalan los expertos, los cuales refieren que todos los pacientes del estudio presentaron respuesta a p53, tienen implicancias clínicas para el manejo de los pacientes con LLC. El tratamiento de los pacientes con LLC mediante fludarabina tiene el potencial de seleccionar por extensión subclones mutantes de p53 que podrían tener resistencia cruzada con otros agentes quimioterápicos. También es posible que las células mutantes p53 de la LLC provoquen enfermedad más agresiva, de acuerdo con la evidencia reciente, la cual señala que la delección del *locus* p53 se asocia con peor pronóstico. Estas consideraciones sugieren que el tratamiento con fludarabina debería ser administrado según las normas actuales del *National Cancer Institute*, que establecen criterios de actividad de la enfermedad que garantizan el tratamiento. Por otra parte, el empleo de fludarabina también podría ser guiado por los datos promisorios basados en el estado de mutación de las

inmunoglobulinas en las células leucémicas, la expresión por dichas células de ZAP70, y las anomalías citogenéticas. En última instancia, se requieren estudios clínicos que determinen el empleo óptimo de fludarabina en el tratamiento de los pacientes con LLC; los datos del presente ensayo sugieren la posibilidad de acción sinérgica a partir de su combinación con otros agentes terapéuticos que pueden tener un modo de acción independiente de p53.

Autoevaluación de Lectura

El tratamiento con droga única de la leucemia linfocítica crónica se efectúa con:

- A. Clorambucilo.
- B. Fludarabina.
- C. Metotrexato.
- D. Colchicina.

[Respuesta Correcta](#)

● NUEVAS POSIBILIDADES DE TRASPLANTE EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 1

California, EE.UU.

La posibilidad de lograr la independencia insulínica mediante el trasplante de páncreas o de islotes de células beta ha aumentado el número de pacientes que desea alguna de estas intervenciones; el trasplante de islotes, a pesar de las dificultades existentes, constituye una estrategia muy promisoría.

Annual Review of Medicine 55:133-156, 2004

Autores:

Stock PG y Bluestone JA

Institución/es participante/s en la investigación:

Department of Surgery, Division of Transplantation, University of California, San Francisco, EE.UU.

Título original:

[Beta-Cell Replacement for Type I Diabetes]

Título en castellano:

Reemplazo de Células Beta en Diabetes Tipo 1

Introducción

Los importantes avances en el terreno del trasplante de tejido pancreático han renovado el interés por esta nueva forma de tratamiento de la diabetes tipo 1. El trasplante de páncreas es una opción de terapia en enfermos con diabetes tipo 1 sometidos a trasplante simultáneo o previo de riñón. El índice de éxito (normoglucemia e independencia insulínica) supera actualmente el 80% a los 3 años. Sin embargo, no se recomienda el trasplante de páncreas en el paciente preurémico debido a las complicaciones quirúrgicas asociadas y a la necesidad de inmunosupresión intensa. Por este motivo, el trasplante de islotes de células beta surge como una posibilidad muy alentadora.

Antecedentes: Evolución del trasplante de células beta

Se estima que la incidencia de diabetes aumentará significativamente en la próxima década. En la actualidad afecta a unos 130 millones de personas en todo el mundo. A pesar de la eficacia de la terapia con insulina, las complicaciones secundarias –nefropatía, neuropatía y retinopatía– son sustanciales. Aunque el control estricto de la glucemia y el descenso de la concentración de la hemoglobina glucosilada minimizan la progresión de la enfermedad, la posibilidad de complicaciones no se anula por completo. Además, el control metabólico tan estricto predispone a episodios de hipoglucemia que pueden ser graves. El trasplante de páncreas ha mejorado sustancialmente durante la última década, transformándose en la mejor forma de reemplazo de células beta, lo cual resulta en euglucemia sostenida, independencia de la insulina y normalización de la hemoglobina glucosilada. La mejoría en la evolución obedeció esencialmente a la introducción de nuevos inmunosupresores –como mofetil micofenolato y tacrolimus– que redujeron la incidencia de rechazo de un 80% a menos de un 20%. Asimismo, el uso de preparados antilinfocíticos y sirolimus, un agente que carece de nefrotoxicidad y de toxicidad sobre las células beta, ha permitido el mantenimiento del paciente sin esteroides; el índice de rechazo de este órgano altamente inmunogénico es actualmente inferior al 10%. La supervivencia del injerto, definida por la independencia de insulina, es de alrededor del 80% en pacientes sometidos simultáneamente a trasplante de páncreas y de riñón. También se demora la progresión de las complicaciones secundarias de la diabetes. El trasplante de islotes pancreáticos es una opción muy promisoriosa; además de ser menos invasivo, se asocia con la posibilidad de una mayor manipulación celular antes del trasplante. La proliferación de células beta de origen embrionario o adulto es otro procedimiento muy importante para el futuro.

Historia del trasplante de islotes

El primer trasplante exitoso se realizó en 1972 en un modelo animal, pero en aquel momento el procedimiento no parecía muy prometedor. Al cabo de los 25 años siguientes al primer trasplante se realizaron más de 300 intervenciones; aun cuando se refirieron algunos casos de independencia de insulina, en la gran mayoría la evolución no fue tan favorable en términos de éxito del injerto a largo plazo, dada la presencia de péptido C. En cambio, el autotrasplante de islotes para evitar la aparición de diabetes en sujetos sometidos a pancreatectomía total por pancreatitis crónica y la infusión intraportal de islotes de páncreas de pacientes no diabéticos con pancreatitis se asociaron con resultados alentadores a largo plazo; además, demostraron que el procedimiento podría ser útil en sujetos con diabetes tipo 1. Por su parte, la evolución favorable de enfermos sometidos a alotrasplante de islotes por patología no autoinmune –diabetes secundaria a fibrosis quística y hemocromatosis– puso de manifiesto la importancia de lograr estrategias inmunosupresoras eficaces contra la respuesta autoinmune y aloinmune. En principio, este objetivo fue difícil de lograr debido a la toxicidad asociada con la mayoría de los agentes inmunosupresores y la recurrencia de autoinmunidad. En la mayoría de los casos el esquema inmunosupresor consistía en globulina antilinfocítica en combinación con ciclosporina, azatioprina y glucocorticoides. Empero, la Universidad de Gießen (Alemania) y la Universidad de Alberta (Edmonton, Canadá) persistieron en mejorar la tecnología y los procedimientos de inmunosupresión y los resultados favorables no tardaron en hacerse evidentes.

Protocolo Edmonton

En 1999, el grupo de Alberta estableció que el trasplante de islotes podía asociarse eficazmente con independencia de insulina. Los dos cambios esenciales responsables de estos resultados nuevamente alentadores fueron, por un lado, la infusión intraportal de islotes frescos seguida de una segunda, y a veces una tercera, infusión; se hizo evidente que se requerían aproximadamente unos 8 mil a 9 mil equivalentes de islotes por kg (1eq/kg) para lograr la independencia de insulina, cantidad que rara vez se lograba con un único dador. El segundo cambio importante fue la aplicación de inmunosupresores sin toxicidad pancreática, esencialmente mediante la eliminación de los corticoides y de los inhibidores de calcineurina.

Estado actual del trasplante de islotes

El aislamiento exitoso de islotes de páncreas depende de un cuidadoso procedimiento de obtención de tejido del donante. Al principio, la preservación tisular era muy inferior a la óptima y la agresión al tejido se reflejaba luego en la escasa calidad de los islotes trasplantados. En este contexto, es fundamental reducir el tiempo de isquemia fría a menos de 8 horas. De hecho, los islotes no son capaces de tolerar la isquemia fría en la misma forma que el órgano entero. Por otro lado, la

obtención de islotes a partir del páncreas del donante mejoró sustancialmente con diversos procesos de digestión automática y purificación a gran escala con gradientes continuos en ficoll en el procesador hematológico Cobe 2991. Un punto débil, sin embargo, sigue siendo la constitución, consistencia y confiabilidad de las enzimas digestivas necesarias para separar los islotes del tejido vecino. En caso de que las colagenasas sean demasiado potentes o el tiempo de exposición excesivamente largo, el procedimiento puede destruir los islotes. En cambio, si la actividad enzimática es muy débil o el tiempo de exposición muy corto, el aislamiento no será adecuado. La introducción de nuevos productos de digestión, con bajo contenido de endotoxinas y contaminantes, permitió superar estos obstáculos. Además, el uso de preparados comerciales minimiza la variabilidad de los diferentes tejidos obtenidos. Algunos factores del donante que incluyen el índice de masa corporal elevado (IMC), la edad avanzada y la experiencia del equipo médico mejoran los resultados funcionales de la intervención. En cambio, la hiperglucemia y la inestabilidad hemodinámica del donante antes de la muerte se asocian con pobres resultados. Pueden ser necesarios entre 4 a 6 seis dadores para lograr la independencia insulínica en un determinado receptor.

Selección de los pacientes para estudios

El éxito del trasplante de islotes requiere la prevención de la respuesta aloinmune y la recurrencia de la respuesta autoinmunitaria, de manera tal que no se puede eliminar el uso de agentes inmunosupresores, con el riesgo asociado de infección y aparición de enfermedades malignas. La relación entre riesgo y beneficio hace que actualmente los candidatos a recibir trasplante de islotes sean enfermos metabólicamente muy lábiles, con hipoglucemias graves a pesar del tratamiento con insulina. Un criterio importante de exclusión es el de pacientes con insuficiencia renal grave, dado que los esquemas actuales de inmunosupresión incluyen agentes con toxicidad renal marcada. Por ello, los individuos con depuración de creatinina inferior del 60% al 70% no son sometidos a trasplante de islotes antes del trasplante renal.

Técnicas para el trasplante de islotes

La infusión intraportal de islotes es la única técnica asociada con resultados exitosos en el hombre. El acceso al sistema portal se logra por cateterización transhepática percutánea, o del sistema venoso mesentérico que se expone mediante una mínima laparotomía. La ventaja del abordaje percutáneo consiste en que se evita la incisión abdominal; sin embargo, el riesgo de sangrado posinfusión es mayor. La hemorragia después del procedimiento se atenúa con la administración de un agente hemostático. Además, el procedimiento actual de infusión requiere anticoagulación con heparina para evitar trombosis del sistema venoso portal.

Estrategias de inmunosupresión

Uno de los mayores avances en este sentido ha sido la eliminación o la importante reducción del uso de agentes con toxicidad sobre los islotes. El éxito del protocolo Edmonton se basa, en parte, en la eliminación de los esteroides y el menor uso de inhibidores de calcineurina como tacrolimus. Otros agentes más nuevos, como el sirolimus, carecen de efecto adverso sobre las células beta. Este fármaco bloquea la proliferación de linfocitos T dependiente de interleuquina (IL)-2. El régimen actual de inmunosupresión consiste en un agente inductor que se utiliza poco antes de la infusión de los islotes, seguido de la inmunosupresión de mantenimiento. En el protocolo Edmonton, el tratamiento inmunosupresor incluye dacluzimab como agente de inducción, un anticuerpo monoclonal humanizado contra el receptor de la IL-2 (CD25), seguido de sirolimus y tacrolimus en bajas dosis, con lo cual se minimiza el efecto nefrotóxico y diabetógeno del tacrolimus, con suficiente inmunosupresión como para proteger a los islotes de la respuesta inmunológica. Una técnica cada vez más utilizada es el cultivo de los islotes durante 48 horas antes del trasplante. Este procedimiento permite la evaluación pretrasplante de los islotes en términos de pureza, esterilidad, contenido de endotoxinas y respuesta *in vitro* a una prueba con glucosa. Asimismo, este período de cultivo previo al trasplante permite la terapia de inducción con agentes de depleción inmunológica (anticuerpos anti-CD3) y antiinflamatorios (antifactor de necrosis tumoral α) antes de la infusión de los islotes, con lo cual se facilita el injerto de éstos. Con la creación de nuevos protocolos se han introducido otros agentes inmunosupresores, como la timoglobulina (preparado policlonal anticélulas T) y el Campath-1H (anticuerpo monoclonal anti-CD52). Asimismo, es cada vez mayor la cantidad de agentes sin nefrotoxicidad y sin toxicidad sobre las células beta; entre ellos, los anti-CD11a y anti-CD40.

Resultados actuales: índice de independencia insulínica, función de los islotes, longevidad y complicaciones

Los equipos de Minnesota y de Philadelphia logran la independencia de insulina con islotes aislados a partir de un único dador en la mayoría de los casos. No obstante, aún debe establecerse la función a largo plazo y la viabilidad de los islotes trasplantados. El grupo de Edmonton observó que entre 15 pacientes evaluables al año del trasplante, el 80% permanecía libre de requerimientos de insulina, con niveles normales de hemoglobina glucosilada. Todos los pacientes habían necesitado al menos dos dadores y una masa total de islotes de 8 000 a 9 000 Ieq/kg para lograr la independencia de insulina. Al momento de la publicación más reciente, esta independencia llevaba en promedio 20.4 meses. La mitad de los enfermos que comenzó a requerir nuevamente insulina presentó un incremento en el título de anticuerpos anticélulas de islote (ICA [*islet cell antigen*]) y antidescarboxilasa de ácido glutámico (GAD [*glutamic acid decarboxylase*]). Todos los pacientes con niveles detectables de péptido C, independientemente de la demanda de insulina, dejaron de presentar inestabilidad metabólica y pérdida de conciencia por hipoglucemia. La mayoría de las complicaciones significativas estuvieron relacionadas con los efectos adversos de la inmunosupresión. En general, el procedimiento es bien tolerado y sólo se requiere un día de internación cuando se lleva a cabo por vía percutánea. Aunque no se constató ninguna secuela intrahepática, la aparición de hipertensión portal y de efectos hepáticos adversos a largo plazo aún no se conocen con precisión. Dosis bajas de tacrolimus también se han asociado con progresión de la insuficiencia renal en 2 pacientes de Edmonton con marcadores de enfermedad preexistente. Asimismo, en algunos pacientes se exacerbó la proteinuria y en casi la mitad se presentó hipertensión arterial, posiblemente relacionada con el uso de tacrolimus. Una complicación conocida del sirolimus es la hipercolesterolemia. También puede observarse anemia y leucopenia, y algunos enfermos pueden requerir tratamiento con factor estimulante de crecimiento de colonias de granulocitos. El sirolimus también se asocia con úlceras bucales. La diarrea es una manifestación adversa relacionada con el tratamiento con sirolimus/tacrolimus. No se han registrado casos de infección por citomegalovirus, a pesar del trasplante de islotes de dadores con serología positiva. Ningún receptor presentó enfermedad linfoproliferativa y tampoco se ha observado sensibilización a antígenos del sistema de histocompatibilidad (HLA), aun con la infusión de islotes provenientes de múltiples dadores. No obstante, en general los resultados indican que las estrategias de inmunosupresión todavía deben mejorar: en 6 de 17 enfermos del protocolo Edmonton reapareció la necesidad de tratamiento con insulina a los 20 meses promedio de seguimiento; y en la mitad de los enfermos con necesidad de insulina hubo indicios de recidiva autoinmunitaria. Aún no se comprende con exactitud la causa del fracaso del injerto en otros individuos, pero la ausencia de anticuerpos anti-HLA y de autoanticuerpos sugiere que el trastorno también podría ser no inmunogénico.

Islotes como modelo de estrategias de tolerancia

El trasplante de islotes se ha transformado en una opción válida de tratamiento para pacientes seleccionados con inadecuado control de la glucemia a pesar de un estricto tratamiento. La aplicación de este procedimiento se ve limitada por la necesidad de inmunosupresión intensa no selectiva, incluso con empleo de agentes nefrotóxicos y diabetogénicos. A diferencia del trasplante de órganos sólidos, el riesgo asociado con el trasplante de islotes es moderado, dado que la cirugía no es necesaria; las complicaciones se limitan a hipertensión portal, y a sangrado en pocos casos. También, al contrario de lo que ocurre con el trasplante de otros órganos sólidos, en diabetes tipo 1 la inducción de tolerancia fuerte y persistente debe considerarse en el contexto de una respuesta patogénica autoinmunitaria en marcha. Por ello, las estrategias de inducción de tolerancia se ven complicadas por la respuesta de células T de memoria, la presencia de autoanticuerpos y las anomalías inmunológicas genéticas del paciente. Durante las últimas décadas, la mejor comprensión de los eventos moleculares asociados con el reconocimiento antigénico y la activación de células T permitió la creación de varios abordajes de tolerancia en numerosos modelos de autoinmunidad y trasplante. Surgió, por ejemplo, la posibilidad de actuar en diversos puntos de la respuesta inmunológica, como bloquear los linfocitos T y distintos correceptores necesarios para la activación celular. El bloqueo de estas moléculas de superficie se asocia con activación incompleta y anergia de células T. Así, los antagonistas de las moléculas de coestimulación constituyen nuevos blancos terapéuticos. Se ha observado que una forma mutante de CTLA-4 que antagoniza la vía accesoria de CD28 se asocia con suficiente inmunosupresión en pacientes sometidos a trasplante de riñón y, en primates, con trasplante alogénico de islotes. Otros antagonistas han sido combinados con diversos agentes, como rapamicina, para mantener la inmunosupresión. Cabe destacar que

muchas de estas estrategias permitieron un injerto exitoso sin el uso de corticoides o de inhibidores de calcineurina. Diversos estudios preclínicos mostraron que los anticuerpos anti-CD3 en combinación con un inhibidor de macrófagos constituye una terapia tolerogénica eficaz. Alemtuzumab (Campath-1H), un anticuerpo monoclonal humanizado contra el CD52, es cada vez más utilizado, habiendo sido aprobado para el tratamiento de enfermos con leucemia linfocítica crónica a células B. La timoglobulina, una globulina antitimocítica humana desarrollada en conejos, está aprobada para evitar el rechazo renal agudo. En 2002 esta droga fue aprobada para el pretratamiento, en ocasiones en combinación con fármacos inmunosupresores convencionales en dosis bajas. Algunas investigaciones han sugerido que una forma de conseguir el estado de tolerancia consiste en la creación de un estado quimérico en el cual grandes cantidades de células del dador se mantienen en el receptor. Las estrategias más promisorias han sido aquellas que incluyen regímenes de acondicionamiento sin mieloablación, ya que la irradiación corporal total se asocia con riesgo de toxicidad excesiva. Se aprobó recientemente el esquema que incluye Campath-1H, sirolimus y terapia con células precursoras CD34+ en receptores con preparación especial. El objetivo del estudio es determinar si dicho protocolo induce quimerismo que pueda ser la base de la interrupción completa de drogas.

Islotes derivados de células progenitoras para trasplante

Uno de los obstáculos más importantes para el trasplante de células beta es la disponibilidad escasa de dadores. Incluso cuando todos los páncreas de dadores cadavéricos se utilicen adecuadamente para preparar islotes, el aporte sólo alcanzaría a una pequeña fracción de pacientes con diabetes tipo 1. El uso de injertos de otras especies tropieza con problemas de rechazo y con la posibilidad de transmisión de infecciones. Las células precursoras embrionarias (CPE) provienen de embriones de huevos fertilizados *in vitro*, no en el cuerpo de una mujer. Las CPE humanas derivan del blastocisto, un grupo de 32 células. La posibilidad de inducir la diferenciación de células progenitoras a células pancreáticas es una alternativa muy promisorias, dado que representaría una fuente inagotable de islotes para trasplante. Además, las CPE pueden recibir modificaciones genéticas estables. En condiciones determinadas, y en presencia de factores de crecimiento, estas CPE podrían dar lugar a células beta productoras de insulina. Una posibilidad alternativa está representada por las células progenitoras multipotentes, residentes en el páncreas adulto. En varios modelos experimentales se comprobó la regeneración de células beta luego del daño tisular, fenómeno que sugiere que ciertas células en el órgano maduro retienen la capacidad de restaurar la masa de células beta. Por último, varios estudios realizados en los últimos 4 a 5 años sugieren que hay células precursoras de páncreas endocrino en órganos distantes, como la médula ósea.

Conclusiones: terapia con insulina *versus* trasplante de células beta

Dadas las complicaciones de la inmunosupresión crónica, por el momento la posibilidad de trasplante de islotes se limita a pacientes que deben ser sometidos también a trasplante de riñón o a sujetos con diabetes que pone en peligro la vida debido a la inestabilidad metabólica. Aun en este caso, y a pesar de los notables avances de los últimos años, todavía son necesarias mejoras sustanciales en los protocolos disponibles; esto incluye la preparación de islotes y del trasplante en combinación con el uso de nuevos fármacos potencialmente tolerogénicos con capacidad de controlar la respuesta autoinmune y aloinmune. Debe evitarse el uso de los esteroides y los inhibidores de calcineurina. Mientras se avanza en estos aspectos, muchos pacientes con diabetes actualmente reúnen indicaciones de trasplante de células beta; para ellos existe un algoritmo establecido en función de la información disponible. Debido a que el éxito del trasplante de islotes se define por la independencia insulínica y requiere la infusión de aproximadamente 9 000 Ieq/kg, se espera que el procedimiento sea más eficaz en sujetos con un bajo IMC o con poca demanda de insulina. En centros con experiencia, la posibilidad de permanecer libre de la necesidad de insulina al año se aproxima al 80% con el trasplante de islotes, y es del 90% en el caso del trasplante de páncreas. En pacientes con mayor masa corporal y con diabetes que pone en peligro la vida, el trasplante de un órgano sólido es la estrategia de elección, dado que se acompaña de una elevada posibilidad de independencia insulínica. La mayor aplicación del trasplante de islotes depende de la introducción de mejores estrategias de inmunosupresión y de procedimientos que prolonguen la sobrevida de los injertos.

ESTABLECEN EL EFECTO DEL ALEMTUZUMAB EN APLASIA DE LA SERIE ROJA

California, EE.UU.

El alemtuzumab parece ser una forma segura y eficaz de terapia para enfermos con aplasia pura de células rojas refractaria al tratamiento.

British Journal of Haematology 123:278-281, 2003

Autores:

Ru X y Liebman HA

Institución/es participante/s en la investigación:

Division of Hematology, Department of Medicine, University of Southern California-Keck School of Medicine, Los Angeles, EE.UU.

Título original:

[Successful Treatment of Refractory Pure Red Cell Aplasia Associated with Lymphoproliferative Disorders with the Anti-CD52 Monoclonal Antibody Alemtuzumab (Campath-1H)]

Título en castellano:

Tratamiento Exitoso de la Aplasia Pura de Glóbulos Rojos Refractaria Asociada con Trastornos Linfoproliferativos con el Anticuerpo Monoclonal anti-CD52, Alemtuzumab (Campath-1H).

La aplasia pura de células rojas (APCR) es una causa infrecuente de anemia grave. El trastorno se caracteriza por la ausencia de reticulocitos en sangre periférica con recuento normal de plaquetas y glóbulos blancos. El examen de médula ósea muestra marcado descenso o ausencia de precursores eritrocitarios con maduración mieloide y megacariocítica normal. Se sabe que la APCR ocurre en asociación con diversos trastornos autoinmunitarios y linfoproliferativos, como lupus eritematoso, artritis reumatoidea, linfoma, enfermedad de Hodgkin y leucemia linfocítica crónica (LLC), entre otras patologías. Se supone que en estas situaciones la APCR es consecuencia de la aparición de linfocitos citotóxicos autorreactivos contra blancos antigénicos expresados en los precursores eritrocitarios. También puede aparecer en el transcurso de infección crónica proliferativa por parvovirus B19 en individuos inmunocomprometidos. Se ha comunicado recientemente la aparición de APCR en asociación con la producción de anticuerpos antieritropoyetina durante el tratamiento con eritropoyetina recombinante. En sujetos con APCR asociada con timoma, la extirpación quirúrgica del timo se acompaña de remisión en aproximadamente un tercio de los pacientes. En aquellos que no responden a esta estrategia, así como en individuos con otras patologías, el tratamiento tradicional consiste en la administración de agentes citotóxicos o inmunosupresores. Se han utilizado corticoides, ciclofosfamida, globulina antitimocítica y ciclosporina. Recientemente, 2 pacientes con APCR refractaria respondieron satisfactoriamente al anticuerpo monoclonal anti-CD20, rituximab. En este artículo, los autores describen los casos de 2 pacientes con APCR refractaria asociada con trastornos linfoproliferativos que respondieron satisfactoriamente al tratamiento con el anticuerpo monoclonal humanizado anti-CD52, alemtuzumab (Campath-1H). El primer paciente presentó APCR durante el tratamiento de LLC con fludarabina. En el segundo caso, la APCR surgió en asociación con timoma benigno. Ambos pacientes fueron refractarios a la terapia citotóxica e inmunosupresora convencional.

Paciente 1

El paciente, de 68 años, con diagnóstico de LLC, recibió un ciclo de clorambucilo. Presentaba anemia, con hemoglobina de 8.2 g/dl. El diagnóstico de LLC se confirmó con citometría de flujo con anticuerpos monoclonales. La aspiración de médula ósea y la biopsia revelaron 30% a 40% de celularidad, con 64% de linfocitos y 6.5% de precursores eritroides. Se cambió el tratamiento a fludarabina, en dosis de 25 mg/m²/día en 4 días consecutivos. El seguimiento semanal después de completado el primer ciclo de fludarabina reveló descenso continuo de los niveles de hemoglobina, a pesar de la recuperación del recuento de glóbulos blancos. Seis semanas después fue internado con fatiga, debilidad, mareos y disnea de esfuerzo. Estaba pálido y taquicárdico. Se comprobó anemia normocítica y normocrómica grave, con hemoglobina de 1.5 g/dl y recuento normal de plaquetas y glóbulos blancos. El recuento de reticulocitos fue inferior a 5 x 10⁹/l. A pesar de una prueba de Coombs positiva, no hubo evidencia de hemólisis activa (lacticodehidrogenasa, bilirrubina total,

bilirrubina directa y haptoglobina dentro de parámetros normales). La serología para citomegalovirus y parvovirus B19 fue negativa. El examen de médula ósea mostró ausencia de precursores eritrocitarios sin LLC residual, por lo que se estableció el diagnóstico de APCR. El paciente recibió inicialmente 100 mg diarios de prednisona, gammaglobulina intravenosa en dosis de 1 g/kg/día durante 3 días y transfusiones. Después de 3 semanas de tratamiento con esteroides no se comprobó mejoría en el recuento de reticulocitos, por lo que se inició terapia con ciclosporina y ciclofosfamida sin mejoría en el nivel de hemoglobina. Luego de la terapia con rituximab, prednisona y ciclosporina se comprobó una leve mejoría en el nivel de hemoglobina, pero 4 semanas después la anemia reapareció. En ese momento se inició tratamiento con alemtuzumab por vía intravenosa, en dosis inicial de 3 mg durante 2 días seguidos de 10 mg el tercer día y de 30 mg el cuarto día. Se continuó con 30 mg 3 veces por semana, durante 1 mes. La dosis total de alemtuzumab fue de 316 mg. El recuento de reticulocitos comenzó a elevarse y la hemoglobina alcanzó valores de 10 g/dl. La mejoría se mantuvo hasta pasados 9 meses de terminado el tratamiento, aunque con LLC residual en el estudio de médula ósea.

Paciente 2

Un hombre de 52 años en buen estado de salud se presenta a la sala de urgencias con astenia intensa y disnea de esfuerzo que habían comenzado gradualmente 2 meses atrás. Al ingreso, el paciente tenía un nivel de hemoglobina de 5.8 g/dl. El recuento de glóbulos blancos era de $12 \times 10^9/l$ con 65% de linfocitos atípicos. El nivel de reticulocitos era inferior al 0.1%. El frotis periférico mostró una anemia normocítica normocrómica, con una población predominante de grandes linfocitos con granulaciones. El estudio de médula ósea reveló ausencia de precursores de glóbulos rojos y aumento de los linfocitos CD8+. El tratamiento comenzó con ciclofosfamida oral y prednisona, pero debió interrumpirse a las 12 semanas por persistencia de la necesidad de transfusiones. Un nuevo estudio de médula ósea mostró APCR con una población de linfocitos grandes granulares CD3+, CD8+, CD57+ y CD4-, CD19-, CD16- y CD56-, con confirmación de un trastorno monoclonal de linfocitos T (con receptor gamma). También se constató en la tomografía computarizada una masa mediastínica parcialmente calcificada que correspondió a un timoma benigno. Tres semanas después de la timectomía el paciente continuaba anémico, por lo que se inició tratamiento con ciclosporina y dexametasona sin éxito. Se inició terapia con alemtuzumab con una dosis inicial por vía intravenosa de 3 mg con incrementos graduales hasta 30 mg al tercer día, y luego 2 veces por semana. La dosis total fue de 133 mg. El recuento de reticulocitos se elevó sustancialmente y se comprobó un descenso marcado del recuento de glóbulos blancos en sangre periférica. Sin embargo, 5 semanas después se constató una elevación del número de grandes linfocitos T CD8 granulares, con nuevo descenso de los reticulocitos. Se efectuó un segundo ciclo de tratamiento con alemtuzumab en una dosis total de 330 mg con respuesta eritrocitaria satisfactoria.

Discusión

Se sabe que en la mayoría de los pacientes con APCR se encuentran poblaciones de linfocitos T-gamma en sangre periférica y en médula ósea, capaces de inhibir *in vitro* el crecimiento de precursores eritroides. En pacientes con APCR relacionada con LLC se observaron cantidades elevadas de linfocitos T gamma con alta expresión de receptores de membrana para fragmento Fc de IgG, en comparación con pacientes con LLC en estadio comparable pero sin alteración en la eritropoyesis. La APCR en timomas también se asoció con expansión clonal de linfocitos T con características morfológicas de linfocitos grandes granulares. La eliminación de estos linfocitos se asoció con remisiones hematológicas. El alemtuzumab, señalan los autores, es un anticuerpo monoclonal IgG específico para el antígeno CD52 presente en linfocitos y monocitos humanos. El fármaco ha sido aprobado para el tratamiento de la LLC de linfocitos B en recidiva y parece más citotóxico para los linfocitos tímicos, con lo cual se produce una depleción de subpoblaciones de células T CD4 y CD8 + más profunda y sostenida. Se ha sugerido que la depleción de linfocitos T autoinmunes podría modular el sistema inmune y generar remisiones de mayor duración de los trastornos autoinmunitarios. La evidencia disponible y los resultados de esta investigación sugieren que el alemtuzumab podría ser una estrategia segura y eficaz de tratamiento en pacientes con APCR, aunque la duración de las remisiones todavía no se conoce con precisión.