

Resúmenes SIIC

● LA CICLOOXIGENASA-2 PODRÍA TENER UN PAPEL ESENCIAL EN LA PATOGENIA DE LA NEOPLASIA GÁSTRICA MEDIANTE LA ESTIMULACION DE LA ANGIOGENESIS TUMORAL

Gwangju, Corea

La ciclooxigenasa-2 y el factor de crecimiento endotelial vascular se encuentran sobreexpresados en la neoplasia gástrica

Journal of Clinical Gastroenterology 37(1):28-33 2003

Autores:

Joo YE, Rew JS, Seo YH y colaboradores

Institución/es participante/s en la investigación:

Departments of Internal Medicine, General Surgery and Pathology, Chonnam National University Medical School, Gwangju, Corea

Título original:

[Cyclooxygenase-2 Overexpression Correlates with Vascular Endothelial Growth Factor Expression and Tumor Angiogenesis in Gastric Cancer]

Título en castellano:

La Sobreexpresión de la Ciclooxigenasa-2 se Correlaciona con la Expresión del Factor de Crecimiento Endotelial Vascular y la Angiogénesis Tumoral en la Neoplasia Gástrica

Introducción

La angiogénesis es un proceso esencial en el tumor primario que crece e invade estructuras adyacentes. El grado de densidad microvascular (DMV) intratumoral parece reflejar la actividad angiogénica generada por las células neoplásicas y la estroma.

Diversos trabajos demostraron que el aumento de la angiogénesis está asociado con diagnóstico desfavorable en varias neoplasias, incluido el cáncer gástrico. El proceso está controlado por factores angiogénicos y angiostáticos que influyen en la proliferación, diferenciación y organización de células endoteliales. El factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV) cumple un papel fundamental en este proceso, y su sobreexpresión está asociada con mayor DMV y progresión tumoral.

Por otra parte, las ciclooxigenasas 1 (COX-1) y 2 (COX-2) limitan la conversión de ácido araquidónico en prostaglandinas. La COX-2, cuya producción es inducida por citoquinas, promotores tumorales, factores de crecimiento y otros mediadores, aumenta en algunas neoplasias, lo cual es indicativo de que su sobreexpresión se correlaciona con la carcinogénesis. Cabe destacar que la sobreexpresión de esta enzima es frecuente en la neoplasia gástrica, fenómeno de importancia diagnóstica. Estudios recientes demostraron que los productos metabólicos de la COX-2 contribuyen a la neovascularización y podrían sustentar el crecimiento tumoral y las metástasis. Sin embargo, todavía no se estudió con profundidad la relación entre la COX-2 y la angiogénesis en la neoplasia gástrica. En la presente experiencia los autores investigaron la influencia de la COX-2 y del VEGF en la angiogénesis del cáncer gástrico.

Métodos

El material de estudio comprendió las muestras 97 de sujetos sometidos a cirugía de neoplasia gástrica. Las características clínicas y patológicas de los pacientes fueron investigadas sobre la base del sistema de clasificación del *American Joint Committee on Cancer* (AJCC). El tamaño medio del tumor fue de 5.5 cm, con un rango que varió entre 1 y 15.5 cm. El período de seguimiento promedió los 58.5 meses. Para evaluar la expresión de COX-2 y de VEGF y la DMV las muestras fueron sometidas a procedimientos inmunohistoquímicos. El índice de tinción de la COX-2 fue calculado como el producto de la intensidad de tinción (0 a 3) y del área teñida. El porcentaje de la última se clasificó como 0, 1 (tinción positiva en menos del 10% de las células tumorales), 2 (10% al 50% de las células neoplásicas) o 3 (en más del 50% de las células anómalas). Los tumores fueron considerados de expresión positiva cuando el índice fue superior a 4 y negativo con cifras inferiores. Por otra parte, la intensidad de la tinción VEGF en las células tumorales fue clasificada como ausente, débil, moderada o importante. En los 2 últimos casos se consideró expresión positiva. Por último, para la cuantificación de los microvasos se procedió a la identificación de las zonas de mayor densidad vascular dentro del tumor. La cantidad de vasos fue determinada en las 5 zonas de mayor densidad vascular, y la DMV se expresó como la cantidad media en estas áreas. El análisis estadístico incluyó

la comparación de la expresión de la COX-2 y del VEGF con diversos parámetros clínicos y patológicos, así como la asociación de los 2 primeros con la expresión de la DMV.

Resultados

En los tejidos neoplásicos la COX-2 fue predominantemente identificada en el citoplasma de las células tumorales, mientras que no se detectó en la estroma tumoral. La mucosa gástrica normal no reveló expresión de la enzima. Por otra parte, el VEGF se localizó principalmente en el citoplasma o en la membrana de las células tumorales. Las áreas de mayor intensidad de tinción se encontraron principalmente en el frente invasivo más que en el centro de la neoplasia. En la mucosa gástrica normal tampoco se observó sobreexpresión del FCEV. Según los criterios de los investigadores, la expresión positiva de la COX-2 y del FCEV en los tejidos tumorales ascendió al 63.9% (62/97) y 75.3% (73/97), respectivamente. Por otra parte, las expresiones de la COX-2 y del FCEV estuvieron notablemente correlacionadas, sin asociación significativa con varios parámetros histopatológicos, incluida la sobrevida. En otro orden, la DMV de los 97 tumores varió entre 23.9 y 189.2, con una media de 75.1 (elegida como valor discriminatorio para dividir entre DMV baja y elevada). De acuerdo con el último criterio, 53 pacientes presentaron DMV baja y el resto DMV alta. La última se asoció significativamente con la profundidad de la invasión tumoral y con menor sobrevida. Por otra parte, el valor medio de la DMV de los tumores FCEV positivos ascendió a 79.8, significativamente superior al de las neoplasias negativas. El valor medio de la DMV en las muestras COX-2 positivas fue de 77.9 y superior al de las neoplasias negativas.

Conclusión

Estudios epidemiológicos indican que el empleo de aspirina y otros antiinflamatorios no esteroides que actúan principalmente sobre la COX disminuye la incidencia de mortalidad asociada con neoplasias colorrectales, gástricas y esofágicas. Los autores comprobaron que los tumores gástricos expresan niveles elevados de COX-2, fenómeno que no se correlacionó con diversos parámetros clínicos y patológicos que incluyeron la sobrevida. Lo anterior indica que la sobreexpresión de la enzima es importante en el desarrollo de neoplasias gástricas, aunque no sería pronóstica de la evolución de la entidad. La experiencia también reveló la relación significativa entre las expresiones de la enzima y del factor de crecimiento endotelial vascular. Por lo tanto, los hallazgos indican que la enzima sería en parte responsable de la neoplasia gástrica en conjunto con factores angiogénicos, como el factor de crecimiento endotelial vascular. Debido a que los inhibidores específicos de COX-1 y COX-2 suprimen el crecimiento tumoral *in vitro* e *in vivo* mediante la reducción de la producción de factores angiogénicos, su empleo podría aportar efectos favorables en la quimioprevención de patologías neoplásicas.

Autoevaluación de Lectura

¿Qué porcentaje de neoplasias gástricas expresan la enzima ciclooxigenasa-2?

- A. 63%.
- B. 25%.
- C. 7%.
- D. 44%.

[Respuesta Correcta](#)

AVANCES EN TRASPLANTE EN EL MIELOMA MULTIPLE

El trasplante autólogo de células madre y el alogénico de médula ósea son dos alternativas evolucionadas para el tratamiento del mieloma múltiple

American Society of Hematology 214-240 2002

Autores:

Harousseau J-L

Institución/es participante/s en la investigación:

Hotel Dieu, Nantes, Francia

Título original:

[Multiple Myeloma - Role of Transplantation in Myeloma]

Título en castellano:

Mieloma Múltiple - Papel del Trasplante en el Mieloma

Trasplante autólogo de células madre (TACM)

Este tipo de trasplante ha sido muy utilizado durante los últimos 15 años para los casos de mieloma múltiple.

Comparación con la quimioterapia convencional

En un estudio francés, el TACM mejoró significativamente la tasa de respuesta; el 38% de los pacientes logró remisión completa o parcial muy buena, contra 14% de los tratados con quimioterapia convencional. Un análisis actualizado de este estudio, con un seguimiento de 7 años, confirma que también mejora la sobrevida libre de recidiva (promedio 28 *versus* 18 meses y 16% *vs.* 8%), y la sobrevida total (57 *vs.* 44 meses, y 43% *vs.* 25%).

Un trabajo inglés, el cual concuerda con estos resultados, ha mostrado un beneficio en la sobrevida de los pacientes tratados con TACM. En una investigación española, la diferencia radicó en que sólo los pacientes que respondieron a la quimioterapia convencional fueron aleatorizados a ésta o a quimioterapia con altas dosis, y la remisión completa fue superior entre los que recibieron quimioterapia con altas dosis. No hubo diferencias significativas en la sobrevida libre de recidiva ni en la sobrevida total. Por último, en un estudio realizado en Italia, se comparó el tratamiento con melfalán/prednisona con 2 cursos de dosis medias de melfalán, seguidos de TACM. Las tasas de remisión completa y sobrevida libre de recidiva fueron superiores con quimioterapia de altas dosis.

De esta manera, comparado con la quimioterapia convencional, el TACM mejora claramente la tasa de remisión completa; y la sobrevida libre de recidiva se prolonga entre 5 y 13 meses. Sin embargo, el beneficio en términos de sobrevida total no es tan importante, principalmente porque el TACM ha sido utilizado como último recurso luego del fracaso de la quimioterapia convencional. Una investigación demostró que si bien el TACM temprano mejoró la supervivencia sin progresión, no modificó la sobrevida total. Entre las ventajas del TACM se encuentra la baja tasa de toxicidad.

Selección de pacientes

En general, a los efectos del TACM se seleccionan pacientes menores de 65 años, con un estadio funcional 0-2 y con función renal normal. La edad es importante debido a que se trata de un importante factor pronóstico y a que la mayoría de los pacientes con mieloma múltiple están por encima de este límite. Los factores de crecimiento hematopoyéticos han modificado sustancialmente los TACM, haciéndolos más seguros y accesibles para personas mayores. En la comparación realizada por un estudio de los resultados por edades, la remisión completa fue superior entre los más jóvenes, en tanto que la mortalidad relacionada con el trasplante resultó superior entre los individuos mayores. Sin embargo, como la sobrevida libre de recidiva y sobrevida total fueron similares, los autores concluyeron que la edad no es un parámetro adverso para pacientes que recibieron quimioterapia con altas dosis y factores de crecimiento para apoyo de células progenitoras de sangre periférica (CPSP). Otro trabajo informó que es posible tratar ambulatoriamente con melfalán 100 mg/m² y apoyo de CPSP a pacientes de hasta 75 años.

No se utiliza TACM en el caso de pacientes con patología renal debido a la elevada toxicidad de la quimioterapia de altas dosis, aunque esto no influye en la calidad de la recolección de células madre ni aumenta el riesgo de rechazo.

Terapia previa

La combinación de altas dosis de melfalán (140 mg/m²) más la irradiación corporal total ha sido considerada por mucho tiempo el régimen estándar previo al TACM. No obstante, en un ensayo se informaron altas tasas de remisión completa con baja toxicidad hematológica adicional al realizarse el tratamiento previo con melfalán 200 mg/m². Al comparar ambos esquemas, se concluyó que se debe preferir la segunda como terapia previa al TACM en el mieloma múltiple.

Fuente de células madre

Debido a su mayor accesibilidad y más rápida recuperación hematopoyética las CPSP reemplazaron a la médula ósea como fuente de células madre en el TACM para el mieloma múltiple, aunque en lo que se refiere a resultados clínicos su superioridad nunca fue demostrada.

Hasta el momento no han sido efectivos los intentos por lograr injertos libres de tumor, pero hubo resultados alentadores al realizar selección negativa de CD19, CD56 y CD138. La dosis mínima de células CD34⁺ a infundir para asegurar un injerto seguro es de 2 x 10⁶/kg. La exposición previa a quimioterápicos afecta significativamente la recolección de células madre y la recuperación hematopoyética, por lo que las CPSP deben ser recolectadas antes.

Aún no ha sido establecido el régimen óptimo para la obtención de CPSP. Algunos utilizan ciclofosfamida más factor estimulante de granulocitos para aumentar el número de CPSP y posiblemente reducir la contaminación y la masa tumoral; otros usan sólo factor estimulante para disminuir morbilidad y costos.

Trasplante en tandem

Si bien hace casi 10 años se informó que la realización de dos TACM consecutivos mejoraba la tasa de remisión completa, su impacto en la sobrevida libre de recidiva y sobrevida total aún debe ser evaluado. En un estudio aleatorizado se comparó un trasplante *vs.* dos trasplantes, sin que se observara diferencia significativa en la remisión completa; pero en el seguimiento a 5 años la sobrevida libre de recidiva y sobrevida total promedio fue superior entre quienes recibieron dos TACM.

Terapia de mantenimiento

Hay informes de mayor tasa de sobrevida libre de progresión y sobrevida total en pacientes sometidos a terapia de mantenimiento con interferón alfa luego del TACM en pacientes que respondieron a la quimioterapia con altas dosis. En un trabajo en el cual se comparó interferón alfa vs. no tratamiento luego de quimioterapia con altas dosis, la sobrevida libre de progresión promedio fue significativamente superior en el primer grupo, pero no hubo diferencias en las curvas de sobrevida libre de progresión y sobrevida total. Por lo tanto, el interferón sólo retarda la recidiva. Actualmente se evalúan terapias de mantenimiento con quimioterápicos, talidomida, bisfosfonatos, e inmunoterapia.

Factores pronósticos

En pacientes tratados con TACM en tándem se observó sobrevida libre de recidiva y sobrevida total superior en caso de ausencia de cariotipo desfavorable y con niveles bajos de $\beta 2$ microglobulina al momento del diagnóstico. Al combinar los factores, se obtuvo un subgrupo de pacientes con prognosis muy pobre: aquellos con citogenética desfavorable y niveles de $\beta 2$ microglobulina > 4 mg/l tienen una supervivencia promedio de 2.1 años, mientras que los restantes pacientes tienen una supervivencia de 7 años. La detección de anomalías en el cromosoma 13 es el factor pronóstico adverso de mayor importancia. Además de las características del tumor previas a la quimioterapia con altas dosis, el logro de remisión completa definida por inmunofijación y la realización de un segundo TACM se asocian con mejor resultado.

Trasplante alogénico de médula ósea

Presenta dos importantes desventajas para el caso de mieloma múltiple. Dado que habitualmente se lo efectúa en pacientes menores de 50 años que tienen hermanos con HLA idéntico, sólo es factible en una minoría. La mortalidad relacionada con el trasplante es muy elevada, principalmente a consecuencia de infecciones y rechazo; un análisis retrospectivo no mostró ventajas sobre el TACM.

No obstante, hay algunos argumentos a favor. Si se efectúa tempranamente, produce remisión y alrededor de un tercio de los pacientes continúa libre de enfermedad 6 años más tarde. Como resultado del efecto antitumoral del injerto, el trasplante alogénico de médula ósea es posiblemente la única terapia genuinamente curativa para el mieloma múltiple. El objetivo actual de los estudios es reducir la mortalidad relacionada con el trasplante, aumentando el efecto injerto vs. mieloma; además de la realización temprana del trasplante alogénico en el curso de la enfermedad, otra opción para lograrlo sería reducir la incidencia y gravedad del rechazo a través de la selección de CD34⁺ u otra modalidad de depleción de células T, si bien esto último aumenta la tasa de recidiva.

Por último, el uso de regímenes previos no mieloablativos (llamados minialotrasplantes) constituye una alternativa interesante para pacientes mayores. Estos regímenes consisten en el uso de melfalán 100 mg/m² combinado con infusiones de linfocitos de donantes. Hasta el momento se ha observado que los resultados se relacionan con el estadio de la enfermedad y que la tasa de recidiva es elevada en pacientes con enfermedad avanzada, por lo que se está estudiando la posibilidad de realizar TACM previo al minialotrasplante.

Conclusiones

Todavía quedan muchos temas por resolver en el campo del trasplante para el tratamiento del mieloma múltiple. La aparición de nuevos agentes (talidomida, drogas inmunomoduladoras, inhibidores de proteasoma) sin duda modificarán las estrategias.

Cabe destacar la importancia de remitir los nuevos casos de mieloma múltiple a centros especializados y de realizar estudios clínicos prospectivos.

Autoevaluación de Lectura

¿Qué ventaja ofrece el trasplante alogénico de médula ósea en el mieloma múltiple?

- A. El injerto tiene efecto antitumoral.*
- B. Puede realizarse en más pacientes que el trasplante autólogo de células madre.*
- C. La mortalidad relacionada con el trasplante es baja.*
- D. No requiere terapia previa.*

Respuesta Correcta

TRATAMIENTO CON BIFOSFONATOS DE LAS METASTASIS OSEAS DOLOROSAS DEL CANCER PROSTATICO HORMONORRESISTENTE

Los bifosfonatos reducen significativamente el dolor producido por las metástasis del cáncer prostático refractario a las hormonas

The Journal of Urology 165: 136-140 Ene 2001

Autores:

Heidenreich A, Hofmann R y Engelmann U

Institución/es participante/s en la investigación:

Departments of Urology, Philipps-University, Marburg, and University of Cologne, Alemania

Título original:

[The Use of Biphosphonate for the Palliative Treatment of Painful Bone Metastasis Due to Hormone Refractory Prostate Cancer]

Título en castellano:

Uso de Bifosfonatos para el Tratamiento Paliativo de las Metástasis Oseas Dolorosas Producidas por el Cáncer Prostático Refractario a las Hormonas

Introducción

Pese a los esfuerzos realizados para la detección temprana del cáncer de próstata -la neoplasia más prevalente en hombres- entre el 10% y el 20% de los casos presentan metástasis al momento del diagnóstico. La mayoría de los pacientes tienen cánceres prostáticos refractarios a las hormonas al cabo de 18 a 36 meses de iniciada la terapia de supresión androgénica. Estos casos tienen un 90% a 95% de incidencia de metástasis óseas, las cuales producen dolor, fracturas patológicas, compresión de la médula espinal, pérdida de peso, anemia y trombocitopenia.

Los bifosfonatos, poderosos inhibidores de la reabsorción ósea normal y patológica, tienen su acción localizada preferentemente en sitios de reabsorción y formación óseas activas, con lo que ejercen una inhibición directa sobre los osteoclastos maduros; sin embargo, estudios recientes sugieren que los bifosfonatos ejercen su acción principalmente sobre los osteoblastos ubicados en la superficie ósea.

El propósito del presente estudio fue determinar la eficacia clínica de los bifosfonatos en el tratamiento de las metástasis esqueléticas sintomáticas originadas en el cáncer prostático.

Pacientes y métodos

La muestra del estudio consistió en 85 pacientes con metástasis óseas dolorosas originadas en el cáncer prostático refractario a las hormonas que fueron tratados con clodronato en un estudio clínico abierto, prospectivo y no aleatorizado. El clodronato fue inicialmente administrado en una fase endovenosa a una dosis de 300 mg/día por 8 días, seguido de una fase de mantenimiento oral.

El objetivo primario fue disminuir el dolor sin aumentar el tratamiento analgésico por lo menos durante 2 mediciones consecutivas. Los objetivos secundarios fueron la disminución de los analgésicos, la mejoría del índice de Karnofsky, la movilidad del paciente y la duración de la acción de los bifosfonatos. La disminución del dolor fue documentada mediante una escala analógica visual de 10 puntos, y el consumo de analgésicos fue asentado en un diario personal.

Resultados

Hubo una significativa disminución del dolor óseo en todos los pacientes, con un puntaje medio de dolor de 7.9 (rango = 6 a 10).

Se observó una significativa disminución del dolor en términos de un puntaje medio de 2.5 (rango = 0 a 4) en 64 pacientes (75.3%; $p < 0.01$), mientras que 19 estaban completamente libres de dolor, sin necesidad de continuar con la medicación analgésica y otros 45 mostraban un significativo descenso del consumo diario de analgésicos. En promedio, el primer efecto analgésico del clodronato fue observado hacia el día 4 de la terapia parenteral.

La mejoría del dolor óseo fue paralela al aumento del índice de Karnofsky y a la mejoría evidenciada en el índice de desempeño del *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG). La media del índice de Karnofsky, del 45%, aumentó al 70%; este aumento tuvo como causa primaria la mejoría de la movilidad; el índice de desempeño del ECOG mejoró desde 3.2 hasta 1.5 por el mismo motivo. Se observaron 21 (25%) pacientes que no respondieron al clodronato, de los cuales 9 (42.8%) tenían metástasis adicionales no óseas, con infiltración de los tejidos blandos o compresión nerviosa. Entre los restantes 12 que no habían respondido, 9 presentaban metástasis óseas extensas y mal estado general, con un índice de Karnofsky inferior al 30%, que podrían explicar la escasa respuesta lograda.

De los 85 pacientes, 74 (87%) fueron seguidos hasta su fallecimiento, con una mediana de supervivencia de 12 semanas (rango = 6 a 22); 32 (37.6%) murieron dentro de las primeras 8 semanas de terapia. La mediana de duración de la acción analgésica fue de 9 semanas (rango = 4 a 22). Cinco (5.9%) fracturas espontáneas desarrolladas durante el tratamiento fueron estabilizadas quirúrgicamente ($n = 3$) o recibieron radioterapia ($n = 2$). Salvo por la disminución transitoria de los niveles séricos de calcio en 11 casos (12.9%) durante la fase inicial de saturación intravenosa, no se observaron cambios significativos en los valores de las enzimas hepáticas, el nitrógeno ureico o la creatinina. El clodronato no ejerció efectos sobre la concentración sérica de antígeno prostático específico, el cual aumentó continuamente durante el seguimiento en todos los pacientes. Los efectos colaterales consistieron, principalmente, en malestar gastrointestinal asociado con la administración

oral de clodronato en 15 hombres (17.7%), lo que obligó a la interrupción de la terapia en 5 casos (5.9%). Sin embargo, todos los pacientes continuaron en tratamiento con clodronato en dosis endovenosas de 300 mg a intervalos de 14 días. Once pacientes (12.9%) padecieron nuevamente dolor óseo luego de la mejoría inicial; éstos habían comenzado con una dosis endovenosa de 300 mg de clodronato diario por 3 días, seguida de infusiones cada 14 días.

Discusión

El tratamiento con bifosfonatos produjo un significativo descenso del dolor y del consumo diario de analgésicos en el 75% de los pacientes estudiados que presentaban metástasis óseas dolorosas originadas en un cáncer prostático refractario a las hormonas.

Estos resultados, señalan los autores, estuvieron acompañados de un incremento en el índice de Karnofsky, el cual obedeció -en principio- a la mejoría de la movilidad de los pacientes. Por ello, los bifosfonatos deberían cumplir un papel decisivo en el manejo paliativo de los pacientes sintomáticos que padecen cáncer prostático refractario a las hormonas.

Autoevaluación de Lectura

Señale la afirmación correcta:

- A. El cáncer de próstata es la neoplasia más prevalente en los hombres.
- B. La resistencia hormonal es infrecuente.
- C. Las neoplasias prostáticas resistentes a las hormonas presentan baja incidencia de metástasis óseas.
- D. Los bifosfonatos reducen el dolor óseo por un efecto directo sobre las terminales nerviosas de la médula ósea.

[Respuesta Correcta](#)

EVALUACION DE TERAPIA ANTILEUCEMICA CON ANTICUERPOS BIESPECIFICOS

El anticuerpo de cadena simple biespecífico anti-CD19/anti-CD3 es capaz de inducir lisis de células B mediada por células T en pacientes con leucemia linfocítica crónica de células B

Leukemia 17: 900-909 2003

Autores:

Löffler A, Gruen M, Wuchter C y colaboradores

Institución/es participante/s en la investigación:

Department of Haematology, Oncology and Tumourimmunology, Robert Rössle Clinic; Department of Haematology and Oncology, Virchow University Hospital; Charité, Humboldt University of Berlin, Berlín, Alemania

Título original:

[Efficient Elimination of Chronic Lymphocytic Leukaemia B Cells by Autologous T Cells with a Bispecific Anti-CD19/Anti-CD3 Single-chain Antibody Construct]

Título en castellano:

Eliminación Efectiva de Leucemia Linfocítica Crónica de Células B por Células T Autólogas con Construcción de Anticuerpos de Cadena Simple Biespecíficos Anti-CD19/Anti-CD3

Introducción

La leucemia linfocítica crónica de células B (LLC-B) es un subtipo frecuente de linfoma no Hodgkin (LNH) de bajo grado y la forma más común de leucemia entre los adultos de países occidentales. Si bien se puede alcanzar la remisión objetiva con varios regímenes de quimioterapia, la enfermedad es recidivante y provoca la muerte del paciente. Hasta el momento no hay tratamiento curativo; de modo que es necesario elaborar nuevas estrategias terapéuticas.

Una modalidad promisoría es el empleo de inmunoterapia con anticuerpos. La utilización de un anticuerpo monoclonal contra CD52 ha producido altas tasas de respuesta; sin embargo, la elevada toxicidad conduce a inmunosupresión, con infecciones oportunistas. También se lograron altas tasas de respuesta en linfomas con

el anticuerpo anti-CD20, el cual, si bien presenta menos toxicidad, parece no tener mayor eficacia en el tratamiento de la LLC-B.

Los anticuerpos biespecíficos (AB), con su capacidad de unión dual a antígenos tumorales y estructuras transductoras de señales en las células efectoras, pueden ser útiles para dirigir células efectoras citotóxicas contra células tumorales. El antígeno CD19 parece ser el más adecuado para el tratamiento de linfomas de fenotipo B debido a que está expresado en la mayoría de las células B malignas, aunque ausente en las células madre hematopoyéticas y en las plasmáticas.

Los autores de este trabajo generaron un AB de cadena simple, bscCD19 x CD3, que se une específicamente a CD19 en las células B y a CD3 en las células T. La actividad dirigida contra linfoma B se puede observar en pocas horas. Hasta el momento, los análisis funcionales de bscCD19 x CD3 se realizaron exclusivamente con líneas celulares y células T primarias alogénicas de donantes sanos. No hay datos sobre células de linfoma (incluidas las de LLC-B) y células T autólogas de pacientes tratados con células T citotóxicas.

En este estudio los expertos muestran que bscCD19 x CD3 induce a través de células de T autólogas depleción de células B primarias de donantes sanos y pacientes con LNH, aun en muestras de pacientes tratados con varios regímenes quimioterápicos. La evidencia señala que absCD19 x CD3 produce la activación efectiva de células T y que la depleción producida es, al menos en parte, mediada por la vía de las caspasas.

Métodos

Se obtuvieron muestras de sangre de pacientes con linfomas de células B en estadio leucémico o de voluntarios sanos, y se separaron las células mononucleares de la sangre periférica (CMSP). De los casos analizados, 23 eran LLC-B, 1 presentaba inmunocitoma (IC) y 1 linfoma de células del manto (LCM).

Para el ensayo de citotoxicidad autóloga se sembraron en medio adecuado las células B blanco con bsc17-1A x CD3 + IL-2 (control) o bscCD19 x CD3, y las células autólogas efectoras. La lisis específica se calculó con la fórmula $100\% \times [(\text{número de células B viables en el medio de control}) - (\text{número de células B viables en la muestra bsc})] / (\text{número de células B viables en el medio de control})$.

Para el ensayo de depleción de células B de linfoma se sembró una suspensión de CMSP con bscCD19 x CD3, bsc17-1A x CD3 como anticuerpo control, medio como control negativo, o fitohemaglutinina (FHA) + IL-2 como control de proliferación de células T. Luego de 5-10 días se midió la concentración de células B y T. Se determinó el número de células viables e inviables, y se calculó la depleción de células B por la fórmula antes descrita. La proliferación de células T se calculó por comparación de los valores absolutos de células T viables en las muestras el día 0 con la muestra bscCD19 x CD3 al final del ensayo de depleción.

Los antígenos de superficie se detectaron por inmunofluorescencia. Se tiñeron y analizaron las CMSP por citometría de flujo para detectar apoptosis. Se investigó la actividad de la caspasa en las CMSP y la inhibición de las caspasas.

Resultados

Dado que el CD19 se expresa en casi todos los estadios evolutivos de las células B, y no sólo en las células B malignas, se esperaba una depleción general de linfocitos B. Para evaluar esto, se analizó la capacidad de las células T de varios voluntarios para producir lisis a células B autólogas normales en presencia de bscCD19 x CD3. Las células B son sensibles a la lisis mediada por bscCD19 x CD3. Se demostró la especificidad con el uso de bsc17-1A x CD3 como control, incapaz de producir lisis de células B aun en presencia de IL-2, que activa las células T.

Esto elimina la posibilidad de que la lisis se produzca por la mera activación inespecífica de células T.

En las muestras analizadas, el porcentaje de células T en CMSP iban de < 1% a 26%, mientras que el de células B era de 49% a 97%. Luego del período de incubación de 5 a 10 días se volvió a medir la concentración de estas células; se observó depleción de la mayoría de las células B en presencia de bscCD19 x CD3, en tanto que hubo aumento de la proporción de células T. Bsc17-1A x CD3 no logró activar las células B; incluso en presencia de potentes activadores de células T como FHA e IL-2 no se observó lisis celular.

El BscCD19 x CD3 solo indujo activación de células T en 22 de las 25 muestras. En 17 casos se logró depleción de células B sin activación adicional de células T por IL-2; cuando ésta fue adicionada se logró citotoxicidad en otras 5 muestras. Catorce muestras provenían de pacientes que habían recibido quimioterapia, 7 de ellos mostraron buena respuesta a bscCD19 x CD3 sin IL-2; este número llegó a 11 al adicionarla. En 10 de los 11 pacientes que no habían recibido tratamiento las células B malignas fueron sensibles a bscCD19 x CD3; en el restante también lo fueron tras la adición de IL-2.

Se observó regulación positiva de los marcadores de activación de células T CD69, CD25, CD38, CD54 y CD95 en varias de las muestras tratadas con bscCD19 x CD3, si bien hubo diferencias en los niveles de expresión entre las muestras.

Se estudió el mecanismo de lisis celular inducido por células T activadas por bscCD19 x CD3. Varias muestras presentaron activación de vías apoptóticas, en mayor proporción las que fueron incubadas con bscCD19 x CD3 que con bsc17-1A x CD3. Hubo aumento de la población de células B que contenían caspasas en las muestras tratadas con bscCD19 x CD3, y la lisis celular inducida por bscCD19 x CD3 disminuyó por la acción de inhibidores de las caspasas.

Discusión En este trabajo, señalan los autores, se demuestra que bscCD19 x CD3 es capaz de inducir depleción de células B primarias, mediada por células T autólogas, en todos los donantes sanos estudiados, dentro de 24 horas, sin activación adicional de células T por IL-2 o coestimulación por anticuerpo anti-CD28. Esto, agregan, condujo al análisis de las muestras de sangre periférica de 25 pacientes con linfoma en estadio leucémico. En 17 casos las células T de estos pacientes fueron estimuladas para eliminar a las células B leucémicas autólogas al ser incubadas sólo con bscCD19 x CD3. En algunas muestras hubo activación adicional

al agregar IL-2.

De estos pacientes, 14 habían recibido quimioterapia previa; 8 respondieron a bscCD19 x CD3 solo y 11 a bscCD19 x CD3 más IL-2.

De los 11 que no habían recibido tratamiento quimioterápico, 10 fueron sensibles a la citotoxicidad mediada por bscCD19 x CD3, y el restante a bscCD19 x CD3 más IL-2.

La resistencia a bscCD19 x CD3 sería por baja proporción de células T o por terapia citotóxica en curso. El bscCD19 x CD3 también es capaz de inducir lisis de células B no malignas, lo que conducirá a depleción de estas células; pero hay regeneración posterior a partir de las células madre hematopoyéticas.

Las células T pueden inducir lisis mediante la activación de las vías apoptóticas de las células blanco; por lo tanto, la alteración de estas vías es un mecanismo de resistencia. Las células T efectoras usan dos vías principales para inducir la muerte de las células blanco: exocitosis de gránulos (perforinas, granzimas) y el sistema de receptor de muerte con Fas (CD95) como principal receptor. Ambas vías conducen a la activación de la vía de las caspasas. Este ensayo demostró que las células leucémicas son destruidas vía apoptótica por activación de caspasas. A pesar de la regulación positiva de CD95 en presencia de bscCD19 x CD3, las células B no fueron susceptibles a la apoptosis iniciada por el anticuerpo CD95 agonista CH-11. Esto hace pensar que la lisis de las células B es independiente de Fas, y que la principal vía sería el sistema de la perforina/granzima.

CANCER Y ENVEJECIMIENTO: MECANISMOS CONVERGENTES

Hay importante convergencia entre vías y mecanismos implicados en el proceso de envejecimiento y de carcinogénesis

Biochimica et Biophysica Acta 1653:41-45 2003

Autores:

Irminger-Finger I

Institución/es participante/s en la investigación:

Laboratorio de Biología del Envejecimiento, Departamento de Geriátrica, Hospitales Universitarios de Ginebra, Suiza

Título original:

[3rd Geneva Aging Workshop 2002: Cancer, Apoptosis and Aging]

Título en castellano:

Tercer Taller de Ginebra 2002 sobre Envejecimiento: Cáncer, Apoptosis y Envejecimiento

Introducción

El cáncer es una enfermedad que se asocia con el envejecimiento y la senescencia. Como enfermedad idiopática asociada con la edad es parte de un proceso normal de envejecimiento. Cuando se estudian las células individuales, donde tanto el cáncer como la senescencia tienen su origen, se hallan conexiones biológicas fundamentales entre ambos fenómenos. En el cáncer, células perfectamente normales son perpetuamente estimuladas para dividirse, escapando a los mecanismos de seguridad que previenen la división celular no programada. En la senescencia, estos mecanismos comienzan a dominar; esto induce una serie de cambios que disminuyen gradualmente las funciones celulares. Un mecanismo molecular común a ambos procesos -la carcinogénesis y el envejecimiento- es la muerte celular programada o apoptosis.

Mientras que la activación de la apoptosis es la forma más drástica de supresión oncogénica, la muerte de las células apoptóticas es también una causa importante de envejecimiento tisular.

El cáncer sobreviene con la edad

El envejecimiento no sólo aumentaría la incidencia de cáncer mamario, sino que también alteraría su biología. Con la utilización, como medidas sustitutas, de la inestabilidad genética, el crecimiento tumoral y la invasividad, los estudios de biomarcadores muestran claramente que los cánceres mamaros diagnosticados en personas mayores no son menos invasivos, sino que exhiben un crecimiento más lento, y que es más probable que sean receptor-estrogénico positivos y menos probable que sean p53, EGFR o ErbB2 positivos.

La «conexión telómero»

El acortamiento de los telómeros que acompaña cada división celular es considerado uno de los mecanismos que causan senescencia en las células somáticas. Las limitaciones del potencial replicativo y los factores que controlan las vías que conducen a la detención del ciclo y la senescencia son temas en investigación. El acortamiento de los telómeros ha sido relacionado con la carcinogénesis, dado que las células neoplásicas, a diferencia de otras células somáticas, poseen activada la enzima telomerasa, capaz de compensar la pérdida de los telómeros.

Un punto destacado en la investigación del envejecimiento ha sido la generación de ratones deficientes para la mitad ARN de la telomerasa. Los roedores no suelen desarrollar tumores derivados del epitelio. Los ratones de última generación con mTERC nulo exhiben un incremento de la incidencia de cánceres espontáneos

dependiente de la edad y de la generación. Las interacciones genéticas para la formación tumoral entre la disfunción del telómero y las vías clave del ciclo celular se hicieron evidentes en las deficiencias de p53, y demuestran una asombrosa similitud con el tipo tumoral y la incidencia en ratones mTERC nulos y en humanos mayores. Así, la disfunción del telómero y la generación de translocaciones no recíprocas podrían conducir a la carcinogénesis epitelial dependiente de la edad.

Otro mecanismo de envejecimiento sería el acortamiento del telómero por estrés oxidativo. Dado que los mecanismos de reparación son menos eficientes en el ADN telomérico, el acortamiento de los telómeros podría ser un biomarcador para enfermedades asociadas con el estrés oxidativo.

Reguladores de la muerte celular

La apoptosis se inicia por señales externas o intercelulares en respuesta al estrés, o por la acumulación de daño celular o acortamiento de los telómeros, a lo que le siguen alteraciones genéticas. Asimismo, podría contribuir al proceso de envejecimiento por la reducción de la función tisular. Varios genes que frecuentemente se encuentran mutados o reprimidos en el cáncer, están implicados en las vías de la apoptosis, por lo que ésta podría ser considerada un mecanismo que une la carcinogénesis y el envejecimiento. La mitocondria es considerada el componente central de la vía de señales apoptóticas; se sabe que controla la apoptosis mediante la liberación de proteínas «apoptogénicas», que actúan sobre la membrana mitocondrial (Bax, Bak, Bcl-2, Bad y Bid). El supresor tumoral p53 actúa como factor de transcripción, e induce apoptosis al unirse a los promotores de los genes blanco p53 *in vivo*. Los mecanismos de desgaste muscular durante la caquexia son similares a la pérdida de tejido muscular durante el envejecimiento; asimismo, el tejido muscular degenera en el cáncer por mecanismos apoptóticos.

Cambios extracelulares en el envejecimiento y la enfermedad

La oncogenia requiere un entorno tisular permisivo. La estroma es mantenida, remodelada y reparada por fibroblastos residentes que sirven de soporte al epitelio. Durante el envejecimiento se observa la acumulación de células epiteliales y fibroblastos que han sufrido senescencia. Las células de la estroma senescente segregan factores que pueden disgregar la arquitectura tisular, estimulando las células cercanas hacia la proliferación. En la fibrosis pulmonar, la proliferación de los fibroblastos lleva a la enfermedad a través de la producción de colágeno. La expresión de TGF β , un factor de crecimiento clave, es necesaria para la reparación tisular, pero puede producir enfermedad.

La tenascina-C, una proteína de la matriz extracelular, está altamente expresada en la mayoría de los tumores sólidos, y antagoniza la adhesión de las células tumorales a través de su unión competitiva al sitio del syndecan-4 en la fibronectina.

Esta unión interfiere con la señalización de la integrina, y finalmente produce proliferación de las células tumorales. _7

Genes que predisponen al cáncer

El riesgo de cáncer aumenta con la edad. Se ha postulado que la carga de mutación aumenta en las células individuales con cada etapa del ciclo celular, lo que hace más probable la transformación maligna. De esta manera, la susceptibilidad podría aumentar con los defectos o con la actividad reducida de las enzimas reparadoras. Es probable que los genes que cumplen un papel en la reparación afecten la formación de neoplasias derivadas de tejidos proliferativos. La proteína asociada al BRCA1 (BARD1) cumple por sí misma, y en conjunción con BRCA1, un importante papel en la reparación y supresión tumorales.

Los ratones con fenotipos deficientes en Brca1 y BARD1 mueren durante los días 8-9 del desarrollo embrionario debido a la falta de proliferación. Los animales Brca -/- pueden ser generados en un entorno genético específico, pero son estériles. Los ratones Bard1 -/- pueden sobrevivir como mutantes dobles, portando deleciones p53.

Se ha informado que una región corta en la BARD1 parece ser necesaria para la actividad inductora de apoptosis de la BARD1.

La BARD1 se encuentra altamente expresada en los testículos y en la reparación del ADN y la inducción de apoptosis en varios estadios de la espermatogénesis. Su función apoptótica podría influir en el progreso del envejecimiento, dado que el exceso de apoptosis puede contribuir a diversos grados de fracaso tisular en órganos tales como el corazón.

La ING1 regula la apoptosis e indirectamente el envejecimiento.

La familia de proteínas ING participa en el remodelado de la prolactina y modifica la actividad de la histona acetiltransferasa, la histona deacetilasa y los complejos proteicos del factor acetiltransferasa. Algunas afectan la transcripción, incluida la expresión de los genes p53-inducibles -como el p21 y el Bax-, en tanto que la ING2 induce la acetilación del p53. La ING1 promueve la reparación del ADN e interactúa con los antígenos nucleares en células proliferativas, vinculando entre sí la reparación del ADN, la apoptosis y el remodelado de la cromatina. En los fibroblastos jóvenes, la apoptosis es inducida por la privación del factor de crecimiento, lo que se acompaña de estimulación de la ING1 endógena, y de este modo provee un vínculo funcional entre las vías supresoras tumorales y el envejecimiento.

Genes que vinculan el envejecimiento y el cáncer

Un defecto de las helicasas de la familia RecQ, codificada por los genes *BLM*, *WRN* y *RECQ4*, produce los síndromes de Bloom, de Werner y de Rothmund-Thompson, respectivamente. Estos síndromes se asocian con predisposición para el cáncer o para el envejecimiento prematuro. En el síndrome de Bloom, los individuos afectados tienen predisposición para varios tipos de cáncer a edad temprana, en tanto que el síndrome de Werner se caracteriza por un complejo trastorno de envejecimiento prematuro. Todo los miembros de la familia

de helicasas RecQ comparten la capacidad de desenrollar el ADN. Estas helicasas podrían interactuar con el ADN G-quaduplex, que puede formarse rápidamente dentro de las repeticiones teloméricas, para vincular las funciones del telómero a los mecanismos del envejecimiento.

La poli(ADP-ribosil)ación es una modificación postraslacional de las proteínas nucleares catalizada por la enzima poli(ADP-ribosa) polimerasa-1. Este mecanismo intervendría en la señalización del daño del ADN, en la regulación de la estabilidad genómica en células bajo estrés genotóxico, en la replicación del ADN -como coactivador de la transcripción- y en el metabolismo energético, con repercusiones sobre la apoptosis y la muerte celular necrótica.

La acetilación de las histonas a través de cambios epigenéticos es un importante mecanismo regulatorio de la expresión de genes dependiente de la edad. La región del promotor del ER_ contiene histona acetilada H3 para silenciar genes. El silenciamiento de genes es un mecanismo común al envejecimiento y la carcinogénesis; dado que podría ser reversible, su estudio es de gran interés terapéutico.

Trabajos Distinguidos, Serie Oncología,
integra el Programa SIIC-ASARCA de Educación Médica Continuada