

CITOQUINAS EN ONCOLOGIA*

**Liliana Guerra,
Gustavo Leiros,
Kumiko Eiguchi**

La evolución de la medicina se vuelve patente si la observamos desde los ojos de la ciencia ficción: se podría pensar en tres médicos a los que se los duerme en un momento determinado, y cada uno de ellos despierta algunos años después, la operación *dormir-despertar* sucede en forma consecutiva entre uno y otro:

Primera secuencia: de 1900 a 1935.

El primer médico despierta en *un mundo diferente*: hay tractores, teléfonos en las casas, aviones; sin embargo *la medicina no ha cambiado*: el médico solamente observa la enfermedad y ayuda en su evolución natural, pero no puede modificar dicha evolución.

Segunda secuencia: de 1935 a 1990.

El segundo observa que *el mundo siguió cambiando* desde el año en que se durmiera, aunque sólo ve mejoras respecto de lo observado en 1935; pero *la medicina protagonizó una revolución*: algunas enfermedades, como la tuberculosis, son curables; los cirujanos abren el corazón y el cerebro; en cuanto al cáncer, ya ocurrió la primera remisión de leucemia (en París, 1947) mediante un cambio de sangre. En 1948, Farber observó (por primera vez) remisión de leucemia usando una droga, la aminopterina, como inhibidor de la formación de nucleótidos y, por lo tanto, de la formación de ácido nucleico y la proliferación celular. Progreso médico que se debe tanto a la observación clínica como a la investigación básica.

Tercera secuencia: de 1990 a 2020.

¿Qué pasará con el médico que le toca esta época? La investigación básica incidirá cada vez más en el progreso médico, en razón de dos cambios fundamentales: 1) muchas sustancias que originalmente eran obtenidas en el ser humano, hoy pueden ser obtenidas en el laboratorio y pueden ser usadas en terapia; por ello, nuestra existencia no dependerá solamente de fenómenos biológicos que se produzcan en nuestro organismo; 2) cada vez se conoce más acerca de la comunicación entre células, esta comunicación será totalmente mapeada en pocos años, tanto en cuanto a mediadores como a receptores.

A partir de estos cambios es posible pensar que se podrán utilizar, en oncología, nuevos tipos de terapias. En nuestros días, el cáncer se intenta curar por medio de una medicina *destruktiva*: cirugía, radiación, quimioterapia. Algunas veces se realiza

* Agradecemos la colaboración brindada por Washington Sesma y Elena Gómez, Técnicos Principales del CONICET, y por el Dr. Daniel Grana. La ayuda brindada para la realización de las inmunocitoquímicas a las Dra. Silvia Galliano y Dra. Ines Stella, Profesoras Auxiliares de la Cátedra de Patología, Facultad de Medicina, Universidad del Salvador. Este trabajo fue financiado por subsidios otorgados por CONICET (PID No. 3195/92).

sustitución de órganos (médula ósea). En los años venideros se desarrollará la tendencia a realizar una medicina *correctiva*.

En los últimos 40 años se han realizado tratamientos destructivos para el cáncer; el primer tratamiento correctivo intentado, en particular para leucemia, fue la terapia con alfa-Interferón, cuya primera publicación fue en 1984.

En el próximo siglo podrá emplearse este tipo de terapia correctiva: se utilizarán diferentes citoquinas para actuar sobre la célula y, diferentes moléculas, que actuarán sobre los oncogenes y anti-oncogenes, como terapia oncológica.

Las citoquinas tienen algunas características comunes:

- a) son proteínas de bajo peso molecular secretadas por diversas células y tejidos, entre ellas algunas son secretadas específicamente por células inmunes: interleuquinas, alfa-Interferón, gama-Interferón;
- b) están involucradas en los procesos inflamatorios y en el sistema inmune normal regulando la magnitud y duración de las respuestas;
- c) se producen habitualmente de forma local y su acción es transitoria;
- d) interaccionan con receptores específicos de alta afinidad que se expresan en las células blanco, y se transducen en señales que inducen cambios metabólicos en dichas células. Se ha visto que algunas citoquinas afectan la expresión de oncogenes y es de esta manera como afectan la proliferación celular.

Dentro de las citoquinas, comentaremos los efectos de los interferones (IFN). Se pueden distinguir tres tipos principales de Interferones:

- alfa-Interferon.-obtenido de leucocitos,
- beta-Interferon.-obtenido de fibroblastos,
- gama-Interferon.-obtenido de linfocitos T.

Los más comunmente usados en oncología son:

- alfa2a:recombinante,
- alfa2b:recombinante,
- alfa1:natural, derivado de línea linfoblastoidea,
- alfa3:natural, derivado de leucocitos.

Acciones específicas:

1) *alfa-IFN* y *beta-IFN* son fundamentales para defensa antiviral, aumentan la actividad de Natural Killer y Macrófagos. *gama-IFN* también aumenta actividad de Natural Killer, Macrófagos y Linfocitos B.

Los IFNs inhiben los oncogenes myc, fos, mos.

gama-IFN actúa sobre membrana y disminuye la permeabilidad celular, induce filamentos del citoesqueleto, induce expresión de proteínas de adhesión fundamentales para la acción del linfocito citotóxico como ser la molécula ICAM.

2) Tienen efectos que muchas veces se superponen con los de otra citoquina, pudiendo actuar de forma sinérgica o encadenada y modulando la expresión de receptores para diversas citoquinas. Por lo que al encarar la utilización terapéutica

de las mismas es necesario considerar la posibilidad de desencadenar efectos laterales derivados de reacciones suscitadas por el toque equivocado de receptores.

3) Los IFNs son específicos de especie; en la década del 80 la ingeniería genética facilitó la obtención de interferones sintéticos recombinantes incrementando su aplicación en la terapéutica médica (oncológica y viral). Generalmente, luego del tratamiento, se encuentran anticuerpos contra estos interferones, lo cual hace que su efectividad disminuya. Sin embargo, el IFN humano natural derivado de leucocitos, altamente purificado y el gama-IFN recombinante raramente producen anticuerpos neutralizantes.

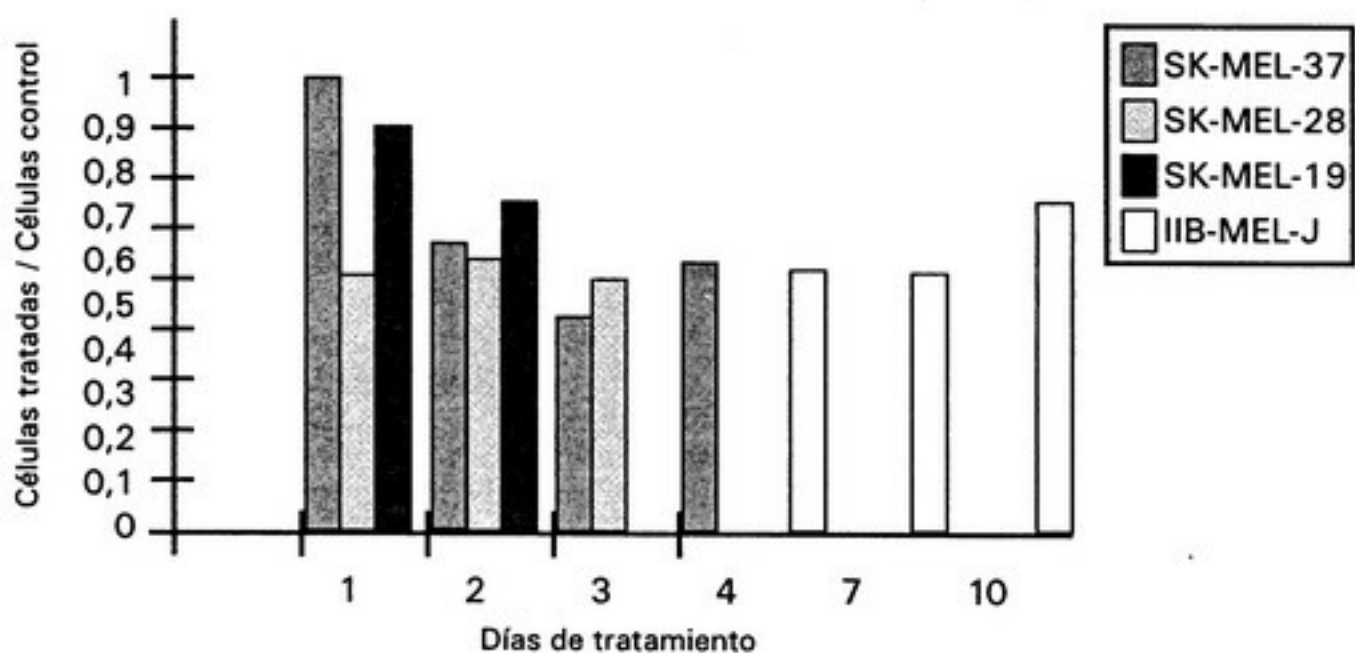
4) Los IFNs son capaces de producir remisión en tumores refractarios a la quimioterapia como el melanoma y carcinoma renal. Es utilizado en leucemias mieloide crónicas y leucemia de células vellosas donde produce remisiones completas.

La acción in vivo de los IFNs ha sido motivo de nuestro estudio. Los IFNs actúan tanto a nivel del sistema inmune: activando Natural Killer y Macrófagos como sobre la célula tumoral.

En cuanto a este segundo aspecto, en nuestro laboratorio hemos evaluado el efecto específico del alfa-Interferon sobre el melanoma humano, usando como modelo diversas líneas celulares, algunas de ellas generadas en Argentina. Durante nuestro estudio hemos observado que el alfa2b-Interferon recombinante induce diferenciación del tumor, tomando en consideración morfología celular; inhibe la proliferación de las células malignas y aumenta la expresión sobre la célula tumoral de las moléculas ICAM-1 (fundamentales para la acción del sistema inmune contra el tumor).

A) En el gráfico se puede observar el efecto que provoca un tratamiento de 1000U/ml de alfa2b-Interferon sobre la proliferación celular. Para cada línea el tiempo de acción óptimo es diferente. Es interesante observar que tratamientos "largos" no producen la destrucción total de las células. Se pueden diferenciar así células sensibles y resistentes al tratamiento.

Acción del IFN alfa sobre distintas líneas celulares oncológicas humanas



B) Intentando establecer diferencias entre células sensibles y resistentes, estudiamos el marcador ICAM-1 en la línea IIB-MEL-J (Figura 1): el agregado de 1000U/ml al medio de cultivo de alfa2b-Interferon provocó la expresión de la molécula ICAM en el 40% de las células luego de 5 días de tratamiento, pero las células que resistieron al tratamiento durante 10 días no adquirieron este marcador (Figura 2A,B).

Figura 1.- Línea celular IIB-MEL-J:

Principales alteraciones en cromosomas= 6,7,10

TLI= 34,7%

Indice clonogénico= 7,1%

Tiempo de generación= 72hs

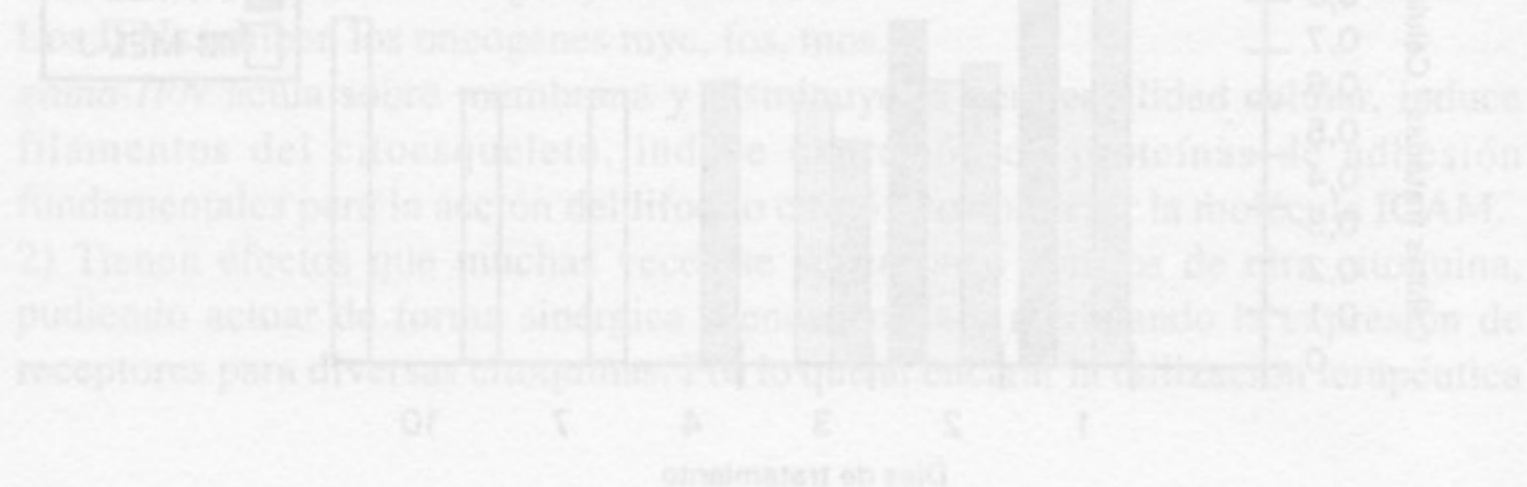
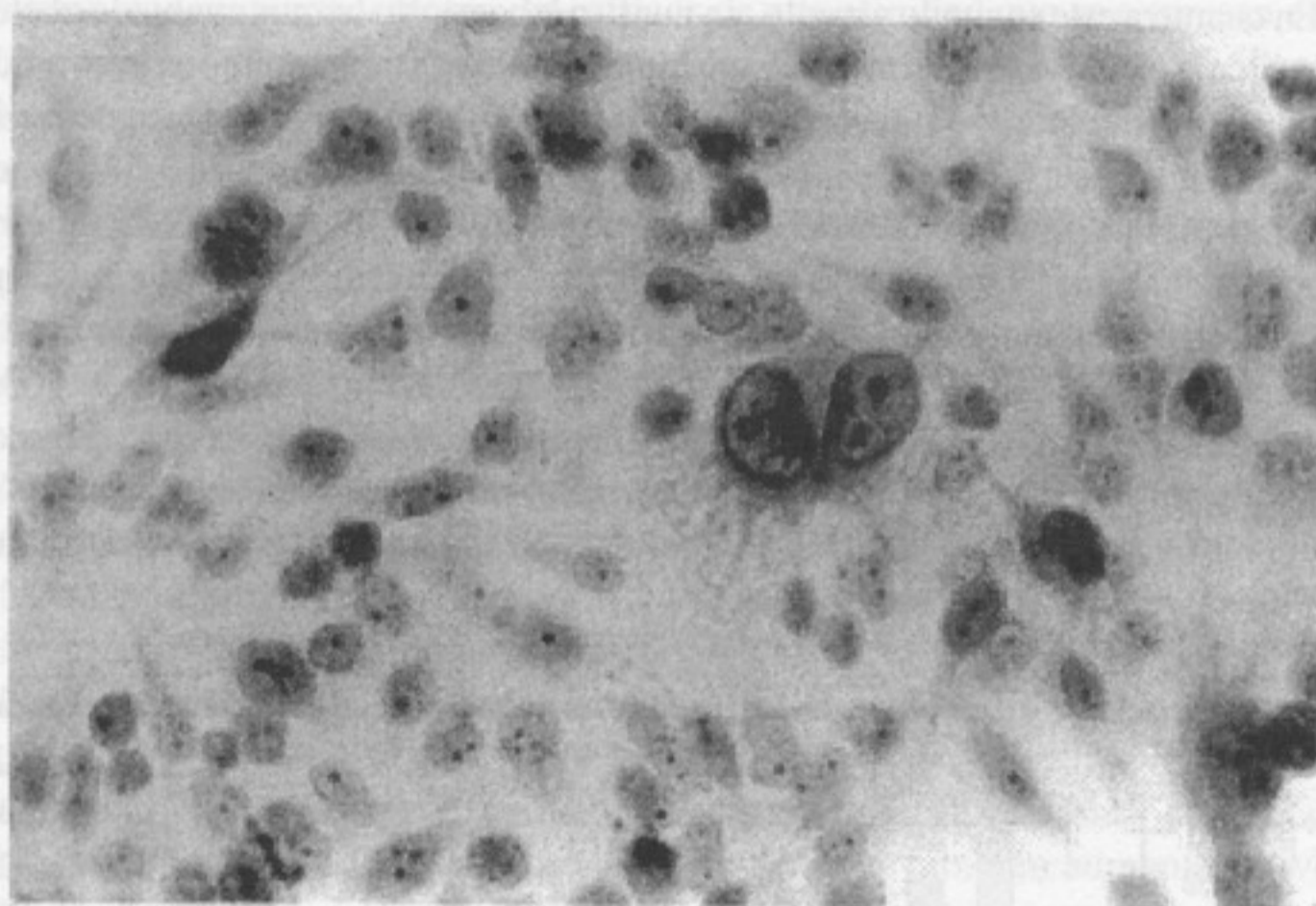
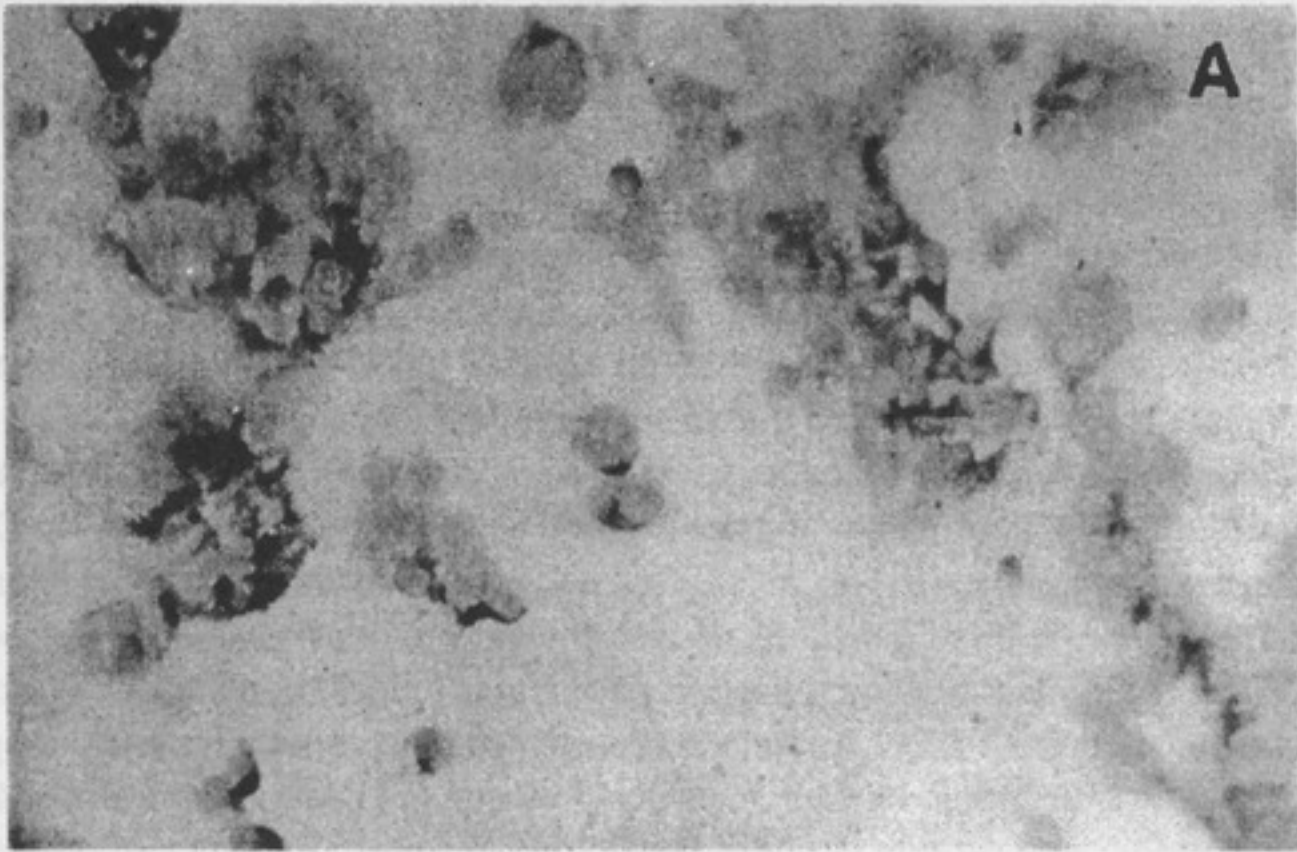
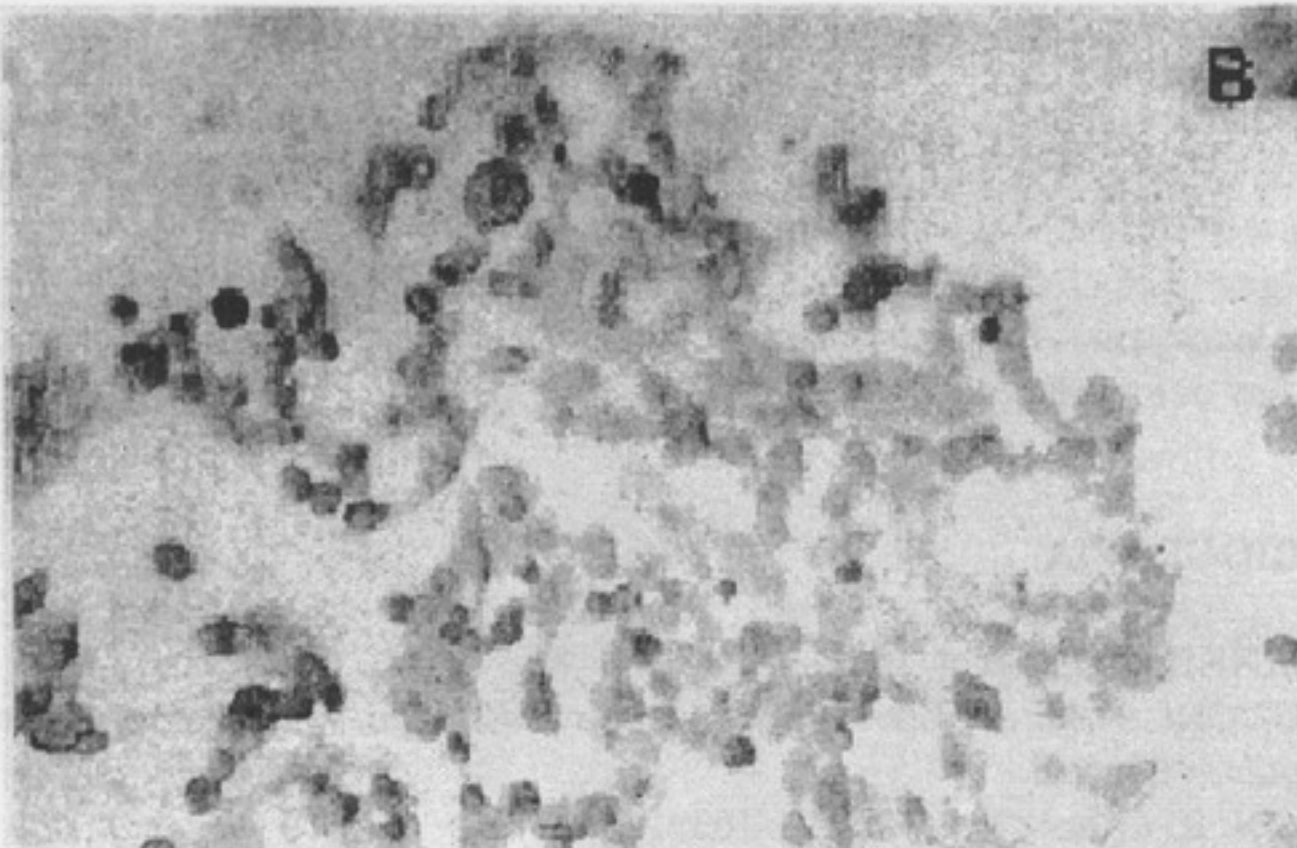


Figura 2.-Anticuerpo monoclonal anti-ICAM1

A) Inmunocitoquímica de células IIB-MEL-J tratadas con 1000U/ml de alfa-Interferon 5 días de tratamiento.



B) Inmunocitoquímica de células IIB-MEL-J tratadas con 1000U/ml de alfa-Interferon 10 días de tratamiento.



88 - INVESTIGACIONES

Nuestros resultados permiten concluir que el tratamiento con inmunomoduladores provoca un efecto directo sobre el melanoma humano a nivel de proliferación celular y también en cuanto a la expresión en las células de mediadores de la acción inmune. Sin embargo, cierto porcentaje de células se hacen resistentes al tratamiento y ello puede ser la razón de la variable respuesta que tienen los tratamientos de melanoma con alfa-Interferon.

De los protocolos clínicos utilizados en la actualidad con alfa-Interferon se puede comentar que:

1.-En leucemias de células vellosas se dan bajas dosis de alfa-Interferon, 2 millones de Unidades/m², 3 veces por semana durante por lo menos 6 meses, hasta normalización del paciente y luego mantenimiento de por lo menos 1 año. El total de pacientes respondedores es de 96%, en un 22% se observa remisión completa con tiempo libre de enfermedad que puede llegar a 4 años.

2.-En leucemia mieloide crónica se dan altas dosis de alfa-IFN hasta 10 millones de Unidades/m² hasta normalización del paciente y mantenimiento posterior. De los pacientes que responden (81%), un 20% se vuelven Cromosoma Filadelfia negativo.

3.-En melanoma se dan dosis altas de alfa-Interferon, consiguiéndose protocolos de 20% de respondedores que muestran remisiones totales con períodos libres de enfermedad de hasta 2 años. Actualmente se lo propone como adyuvante luego de la extirpación quirúrgica del tumor primario profundo o de los ganglio linfáticos metastatizados. Ello retarda la nueva aparición del tumor. En este caso se trata al paciente con dosis bajas de la droga.

4.-En carcinoma de células renales los resultados todavía no son satisfactorios: 17% de respondedores, con solo 6% de remisiones completas.

Observación

a) Remisión completa: ausencia de células malignas en médula ósea y hemograma normal (se considera normalidad para tres parámetros: hemoglobina, recuento de plaquetas, recuento de granulocitos).

b) Algunos efectos adversos del Interferon: fiebre, dolor de cabeza, en algunos casos leucopenia. En pocos casos se puede observar toxicidad hepática, en este caso hay que suprimir el tratamiento inmediatamente.

BIBLIOGRAFÍA

- BARNHILL, L.R. et al. *Dermatology* 187: 86-90, 1993.
- EIGUCHI, K. et al. *Libro de resúmenes del Simposio Latinoamericano de Citoquinas* 63:p20.
- FOON, K. *Cancer Res.* 49:1621-1639, 1989.

- GUERRA, L. et al. *Experimental Cell Res.* 188: 61-65,1990.
- GUERRA, L. et al. *Medicina* 53 (2): 187-189, 1993.
- KAISER, H. et al., en *Metastasis and Dissemination*, pags. 175-217, De. Gorelik, 1989.
- MASTRANGELO, M. et al. *Seminars in Oncology*, 15:569-577, 1988.
- RAMSEY, P.S. et al. *Cancer Res.* 53: 4652-4657, 1993
- RIETHMULLER, G. et al., en *Human Melanoma*, págs. 106-118, De. Soldado Ferrone., 1990
- J. SCHILLER, J. et al. *Cancer Res.* 50: 4588-4594, 1990
- WEIDMANN, E. et al. *J.Immunother.* 12(2): 123-131, 1992
- YONEDA, K. et al. *J. Dermatol.* 20(3): 144-150, 1993.