

Mordoh, José; Barrio, María Marcela (diciembre 2004). *Vacunas celulares terapéuticas para melanoma : Descubrir al enemigo oculto*. En: Encrucijadas, no. 29. Universidad de Buenos Aires. Disponible en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad de Buenos Aires: <<http://repositorioubu.sisbi.uba.ar>>

Vacunas celulares terapéuticas para melanoma

Descubrir al enemigo oculto

Un equipo de científicos argentinos logró desarrollar exitosamente en ratones una vacuna experimental contra el melanoma, un cáncer de piel altamente agresivo y que además es el más frecuente entre las personas de 15 a 44 años. La lógica del hallazgo consiste en inyectar a los animales unas células particulares llamadas "dendríticas", extraídas de los propios ratones y "cargadas" con células tumorales muertas. Al aplicarse la vacuna, los linfocitos T, principales agentes del sistema inmune, comienzan a reconocer y atacar el tumor. Ya ha sido aprobado su ensayo en seres humanos.

Dr. José Mordoh

Profesor de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-UBA. Director de la Maestría en Biología Molecular Médica, UBA. Investigador Superior del CONICET.

Dra. María Marcela Barrio

Subdirectora del Centro de Investigaciones Oncológicas - FUCA
Bioq. Erika M. von Euw - Becaria UBA.

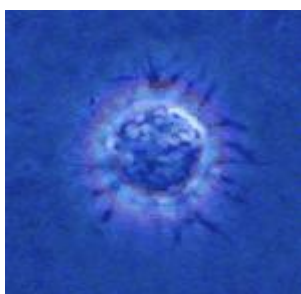


Figura 1: Fotografía de contraste de fases de una Célula Dendrítica humana inmadura.

El cáncer es un conjunto de enfermedades caracterizadas por una doble falla: una alteración "real" en el control de la división celular, independizando a las células tumorales de los controles normalmente existentes en un organismo sano; y una alteración "potencial" en los mecanismos que controlan la ubicación témporo-espacial de las células, impartiendoles la capacidad potencial de migrar a distancia del sitio de origen de la célula tumoral (metástasis). ¿Por qué hablamos de una alteración real y una alteración potencial? Porque el descontrol de la replicación celular es el elemento primario del cáncer; sin ella no habría tumor. La segunda alteración es potencial porque muchos tumores son detectados cuando aún no han migrado fuera de su sitio de origen;

por lo tanto, es una manifestación que si bien se producirá si se deja el tumor librado a su evolución natural, puede no estar presente aún en el momento de detección de un tumor. En este momento es posible afirmar que el cáncer es una enfermedad genética, en el sentido que siempre es determinado por una o más mutaciones en genes que regulan la división celular y la ubicación témporo-espacial de las células. Los genes cuya mutación predispone al cáncer se denominan oncogenes y genes supresores. La gran mayoría de las mutaciones que determinan el cáncer se producen en las células somáticas, esto es, en más del 95 % de los cánceres no existe predisposición hereditaria. Una vez que estas mutaciones se han producido, se produce lo que denominamos "efecto avalancha": las mutaciones originales determinan nuevas mutaciones, éstas determinan mayor agresividad y capacidad de producir metástasis, y eventualmente resistencia a los agentes quimioterápicos, y el avance del tumor se hace finalmente incontrolable. Esto determina que, a pesar de los avances efectuados en el diagnóstico y tratamiento del cáncer, el problema continúa siendo grave. Sólo algunas neoplasias, como el cáncer de

testículo, y algunas leucemias y linfomas son curables cuando están diseminadas. En las neoplasias más frecuentes, como cáncer de mama, pulmón, colon, melanoma, y otros, sólo el 1.5 - 30 % de los pacientes sobreviven cinco años cuando el tumor se ha diseminado.

¿Es posible evitar la aparición del cáncer? En algunos casos sí, y en estos casos es deseable adoptar conductas preventivas, como evitar fumar (dicho hábito está ligado con el cáncer de pulmón); evitar la exposición excesiva al sol (dicha exposición está ligada a la aparición del melanoma, un cáncer de piel sumamente agresivo). Sin embargo, en la inmensa mayoría de los tumores no es posible evitar su aparición. Por lo tanto, debemos construir “protectores de avalanchas”. Los protectores de avalanchas naturales son los elementos del sistema inmune: anticuerpos y linfocitos. Sin embargo, éstos no controlan normalmente al tumor, por lo menos en aquellas personas donde hubo desarrollo tumoral. La pregunta crucial es entonces: en una persona que “espontáneamente” no puede rechazar el tumor, ¿es posible inducir un rechazo al mismo? Para ello se está trabajando desde hace varios años en el diseño de vacunas antitumorales. En cáncer, las vacunas utilizadas hasta ahora se denominan “terapéuticas”, ya que se utilizan una vez que la enfermedad se ha declarado, a diferencia de las “vacunas profilácticas” utilizadas en enfermedades infecciosas y que sirven para “prevenir” una infección determinada. En nuestro laboratorio hemos comenzado hace ya 15 años el estudio de vacunas terapéuticas en melanoma. ¿Por qué? El melanoma tiene gran importancia médica en la actualidad, ya que es el tumor cuya incidencia aumenta más rápidamente, calculándose que 1 de cada 67 niños que nacen lo padecerá en el curso de su vida. Es el cáncer más común entre los 15 y 44 años, y sólo en nuestro país se detectan anualmente 5.000 nuevos casos. Estos pacientes descansan especialmente en el diagnóstico precoz; luego tienen escasas opciones terapéuticas válidas. Además de factores de riesgo ambiental, como la exposición a la luz solar, existen fenotipos predisponentes de probable control genético, como el tipo de piel, la pigmentación, el número total de lunares y la presencia de lunares displásicos. Resumiendo, existe una gran franja de la población con mayor susceptibilidad al desarrollo de melanoma cutáneo, ya sea por características de predisposición genética o por factores ambientales.

La detección precoz y extirpación quirúrgica son herramientas fundamentales en el tratamiento del melanoma, y constituyen un factor determinante para que el aumento actual de la curva de mortalidad sea menor que el de la curva de incidencia. El melanoma cutáneo primario es capaz de despertar una respuesta inmune, como se infiere por la intensa reacción linfoide que suele acompañar dichas lesiones. En contraposición, dicha capacidad se pierde en gran medida en las metástasis. Si consideramos los esquemas actuales de vacunación terapéutica, donde se tratan pacientes con enfermedad declarada, el objetivo principal de la vacunación consiste en lograr en el período libre de enfermedad una inmunización eficaz del huésped induciendo una respuesta humoral y celular en magnitud suficiente como para neutralizar el crecimiento y diseminación ulterior de las células de melanoma que pudieran haber producido metástasis.

Ahora bien, ¿cómo lograr que el sistema inmune detecte y ataque a las células tumorales que habitualmente el organismo no puede reconocer?

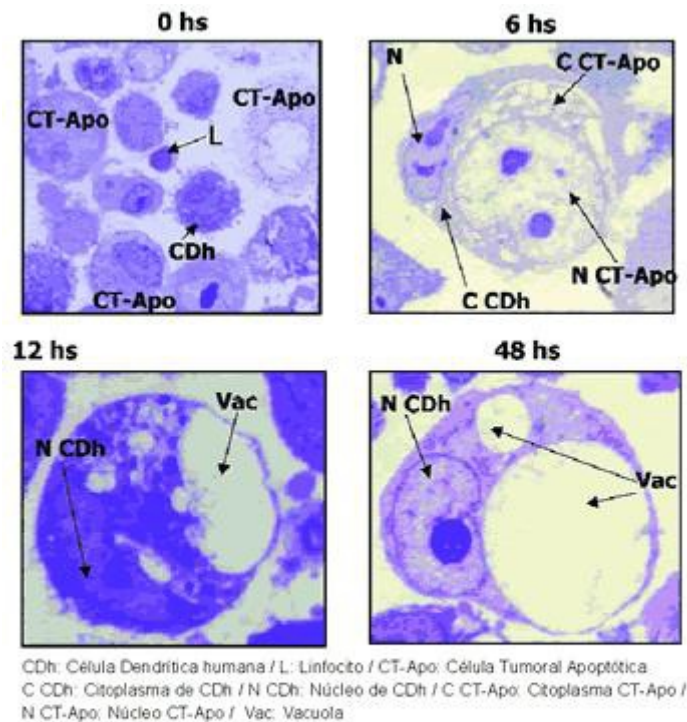


Figura 2: Imágenes a distintos tiempos de co-cultivo de CDh humanas con Células Tumorales Apoptóticas (muertas) (cortes ultrafinos de 0,5 micrones teñidos con azul de toluidina).

Los antígenos son las proteínas y/o azúcares expresados en la superficie de las células tumorales que permiten distinguirlas de sus contrapartes normales y que son blanco de los linfocitos citotóxicos o los anticuerpos. Por lo tanto, uno de los dilemas que se presentan para estimular la respuesta inmune es: ¿qué antígenos utilizar para la vacunación?

Nuestro enfoque es que la utilización de un monoantígeno purificado no parece ser suficiente, ya que se posibilita la aparición de variantes resistentes de células tumorales que no expresan dicho antígeno. Parafraseando lo que ha sucedido con la quimioterapia, donde la “poliquimioterapia” se ha revelado en general más eficaz que la “monoquimioterapia”, en nuestro caso la “poliantigenovacunación” sería más eficaz que la “monoantigenovacunación”. En tal caso, ¿qué mejor fuente de antígenos que la célula tumoral entera, una vez irradiada para suprimir su capacidad replicativa?

En efecto, la utilización de células enteras “muestran” al sistema inmune una gran variedad de antígenos. Nuestro grupo de investigación ha efectuado un Ensayo Clínico sobre 30 pacientes con melanoma utilizando como vacuna una mezcla de células alogeneicas de melanoma (VACCIMELMR), desarrolladas totalmente en nuestro laboratorio. En dicho estudio se verificó un aumento significativo de la sobrevida libre de enfermedad de 7,0 meses en un grupo control de 24 pacientes, a 20,0 meses en el grupo tratado ($p < 0.001$). A los 33 meses existían aún 9 pacientes libres de enfermedad (30 %), y por lo menos en dos pacientes se hallaron evidencias de desarrollo de metástasis con posterior regresión de las mismas sin mediar otro tratamiento que las vacunas.

El mecanismo de acción propuesto para las vacunas utilizadas hasta ahora consiste en la

atracción al lugar de inyección de grandes cantidades de células presentadoras de antígeno (APC), las que digieren las células tumorales, y luego de migrar a los ganglios linfáticos regionales, “presentarían” los antígenos en forma adecuada a los linfocitos B y/o T para generar anticuerpos y/o linfocitos citotóxicos. Este mecanismo es necesario para que los linfocitos puedan “ver” a los antígenos y así activarse para generar la respuesta inmune efectora, ya que los antígenos no pueden ser reconocidos directamente por los linfocitos. Las células dendríticas (CDs), así denominadas por las prolongaciones que emiten a partir del cuerpo celular (Figura 1), son las más eficientes presentadoras de antígeno del organismo.

Las células dendríticas poseen dos estados de diferenciación: “inmaduras” con alta capacidad de fagocitosis y bajos niveles de presentación antigénica, y “maduras” que han perdido su capacidad fagocítica pero adquirido gran capacidad de presentación antigénica. Dichas células dendríticas humanas (CDh) maduras poseen gran capacidad de estimular linfocitos T de memoria y naïve. Nuestro interrogante fue, entonces, ¿es posible optimizar la captación de células tumorales irradiadas por CDh inmaduras si su interacción se produce in vitro (en el laboratorio) y no in vivo (en el organismo), como se describió en el estudio clínico antes mencionado? Como siempre, en el caso de una posible terapia a aplicar en seres humanos, es necesario comenzar el estudio en sistemas experimentales. En nuestro caso utilizamos un modelo de melanoma de ratón (B16-F1) y desarrollamos una vacuna para proteger a los ratones de la enfermedad.

Utilizando el modelo de melanoma murino B16-F1, desarrollamos un protocolo de vacunación con células dendríticas que han fagocitado células tumorales inducidas a la muerte celular programada (apoptosis). Estas células, repletas de antígenos tumorales, son ávidamente captadas por las células dendríticas inmaduras, y así fueron usadas como vacunas. Los ratones fueron vacunados con 4 dosis de la vacuna, y posteriormente se los inyectó con células de melanoma “vivas”, lo que se denomina “desafío”. Luego de efectuar el desafío, se observó que mientras todos los ratones no vacunados desarrollaron tumor a las 5 semanas, el 80% de los ratones vacunados permanecían libres de enfermedad doce semanas después del desafío.

Asimismo, y como preparación para un Ensayo Clínico, hemos demostrado que células dendríticas humanas (CDh) fagocitan una mezcla de células tumorales apoptóticas (muertas), líneas celulares de melanoma (CT-Apo), obtenidas en nuestro laboratorio, con alta eficiencia, como se observa en la Figura 2.

En base a estos excitantes resultados preclínicos se elaboró un Ensayo Clínico de vacunación con células dendríticas humanas cargadas con células tumorales apoptóticas (muertas) en pacientes con melanoma, que acaba de ser aprobado por la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). Es de esperar que mediante la combinación de investigación básica e investigación clínica, sea posible avanzar rápidamente en el desarrollo de vacunas terapéuticas contra el melanoma y otros tumores.

Bibliografía

- [1] 1. Mordoh, J. et al.: “Allogeneic cells vaccine increases disease-free survival in Stage III human melanoma patients: a non-randomized Phase II study”. *Medicina* 57: 421-427 (1997).
- [2] Mordoh, J., et al.: “Vacunas en pacientes con melanoma metastásico Estadio III. Actualización de sobrevida libre de enfermedad en un Protocolo de Fase II no

randomizado". Medicina 59; 571 (1999).

[3] Bover et al.: "Experiencia clínica sobre el tratamiento con ciclofosfamida y células tumorales autólogas en melanoma maligno". Tumor 5: 3-10 (1992).

[4] Guerra, L. et al.: "Characterization of IIB-MEL-J, a new and highly heterogeneous human melanoma cell line". Pigment Cell Res. 2: 504-509 (1989).

[5] Kairiyama, C. et al.: "Biologic, immunocytochemical and cytogenetic characterization of two new human melanoma cell lines: IIB-MEL-LES and IIB-MEL-IAN". Pigment Cell Res. 8/3: 121-131 (1995).

[6] Bover et al.: "Vaccination with irradiated melanoma cells and recombinant murine granulocyte macrophage colony stimulating factor (rmGM-CSF) stimulates specific anti-tumor response and inhibits tumor growth in the B16F1/C57BI model". Proceedings of the AACR vol: 42, abs 5509 , (2002).

[7] Goldszmid, R.S. et al.: "Dendritic cells charged with apoptotic tumor cells induce long-lived protective CD4+ and CD8+ T cell immunity against B16 melanoma". J Immunol. 1;171(11):5940-7 (2003).

Agradecimientos

Nuestro trabajo sólo pudo ser realizado gracias a los aportes del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, la Universidad de Buenos Aires, la Fundación Sales, la Fundación María Calderón de la Barca, la Fundación Cáncer (FUCA) y la Fundación P. Mosoteguy, Argentina.