



Rituximab: una nueva terapia antitumoral

Saldaña-García Mariana del R.¹, Saldaña-García Carlos²

Resumen

Los linfomas no Hodgkin (LNH) pertenecen a un grupo heterogéneo de neoplasias del sistema inmune, predomina el tipo de células B que representa más del 90% de los casos. El Rituximab (RTX) es un anticuerpo anti-CD20 monoclonal quimérico (ratón/humano) creado mediante Ingeniería Genética, que se ha utilizado con resultados muy alentadores en pacientes con recaída o refractarios al tratamiento de LNH de células B de bajo grado y en pacientes con recaída en etapas III/IV de linfoma folicular. Sus mecanismos de acción guardan relación con la apoptosis, la inhibición de factores de transcripción Map-quinasa, p38, el factor nuclear kappa-beta (NF-κB), Sp-1, inhibición de genes de supervivencia de la familia Bcl-2 o YY1 que participan en la expresión del ligando de Fas. El RTX es capaz de inducir citotoxicidad dependiente del complemento y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos. Recientemente se postula su probable utilidad en enfermedades autoinmunes.

Palabras clave: *apoptosis, CD20, linfoma no Hodgkin, Rituximab.*

Rituximab: a new antitumor therapy

Abstract

The non-Hodgkin's lymphomas (NHL) belong to a heterogeneous group of immune system neoplasms, the B type represents more than 90% of the cases. The rituximab (RTX) is a chimeric monoclonal antibody anti-CD20 (Human/mouse) created through Genetic engineering, which has been used with encouraging results on patients with relapse or refractory to low grade B-cell lymphoma treatment and with patients displaying a relapse on III/IV stages of follicular lymphoma. Its mechanisms of action is due to the apoptosis and the inhibition of transcriptional Map-kinase, p38, nuclear factor kappa-beta (NF-κB) Sp-1, evolutionary related bcl-2 or YY1 are involved with the expression of the Fas ligand. The RTX is capable of inducing the complement dependant cytotoxicity and the antibody dependant cell cytotoxicity. Recently it is claimed its possible use in autoimmune diseases.

Key words: *apoptosis, CD20, non-Hodgkin lymphoma, Rituximab.*

1. Médico Becario de la División de Inmunología del Centro de Investigación Biomédica de Occidente, del IMSS

2. Posgrado en Inmunología adscrito al Servicio de Consulta Médica de primera atención adultos del Hospital Civil de Guadalajara Juan I. Menchaca
Contacto: Dra. Mariana del R. Saldaña-García. Centro de Investigación Biomédica de Occidente IMSS. Correo electrónico: marianasgo31@hotmail.com
Saldaña-García MR; Saldaña-García C. Rituximab: una nueva terapia antitumoral. *Rev Med MD* 2011; 2(4) : 219 - 222

Linfoma No Hodgkin

El término linfoma hace referencia a un conjunto de tumores que se desarrollan en el sistema linfático, también conocidos como tumores sólidos hematológicos. La Organización Mundial de la Salud clasifica a los linfomas en dos tipos según su origen celular: linfoma Hodgkin y No Hodgkin (LNH).^{1,2}

El LNH incluye un grupo heterogéneo de neoplasias del sistema inmune que comparten la expansión monoclonal de los linfocitos T y B. Son más frecuentes que los linfomas Hodgkin, predominando el de células B que representa más del 90%.³

Los LNH se originan de las células B y representan una subpoblación de células pre-B y algunas células B maduras.³ La incidencia de LNH ha aumentado continuamente desde hace algunos años y es ahora el quinto cáncer más común, en Estados Unidos se reportan hasta 25 casos por cada 100,000 habitantes.⁴ En México, en el 2007 el cáncer se situó como la tercera causa de muerte, el LNH representó, para el género masculino el 3.6% de defunciones, mientras que en el género femenino el 2.7%.⁵

El tratamiento del linfoma ha tenido un avance muy significativo en la última década, reduciendo su mortalidad. En 2010, un estimado de 65,540 nuevos casos de LNH fueron diagnosticados y 20,210 pacientes murieron por la enfermedad.¹ Por lo tanto, pasó a ser un tipo de cáncer curable en una elevada proporción de pacientes. En el caso particular del linfoma agresivo, hasta el 80% de los casos son susceptibles de curación con las nuevas modalidades de tratamiento.⁶ Durante las últimas dos décadas, el tratamiento del linfoma se basó principalmente en el uso de quimioterapia administrada sola o en diversas combinaciones y dosis. Uno de los esquemas de tratamiento más utilizado es el CHOP (Ciclofosfamida 750 mg/m² de superficie corporal, Adriablastina 50 mg/m² de superficie corporal, Vincristina 1.4 mg/m² de superficie corporal y Prednisona 100 mg/m² de superficie corporal por cinco días), administrada en dosis única cada 21 días (ciclo), completando 6 ciclos. Este esquema terapéutico fue considerado como el estándar de oro para el manejo del LNH.^{3,7,8} En los últimos años la aparición de nuevas terapias biológicas ha mostrado una amplia y esperanzadora gama de opciones para el tratamiento del LNH.

Desde los años 60, el Profesor George Mathé inicia la inmunoterapia utilizando BCG para el tratamiento de tumores líquidos. Posteriormente, Rosenberg estudia la administración de interferón y otras interleucinas como la IL-2.^{9,10} Desde entonces, se ha intentado desarrollar anticuerpos contra las células tumorales, observando en la actualidad resultados interesantes.

Apoptosis

La apoptosis es un tipo de muerte celular que requiere síntesis de proteínas de novo, regulada por una complicada cascada de señalización y factores de transcripción con participación de caspasas.³ Es conocida como suicidio o muerte celular programada e inicia como respuesta a una

variedad de estímulos físicos, químicos y/o biológicos, por ejemplo, la quimioterapia que induce daño al ADN y desregulación de oncoproteínas.^{11,12,14} La apoptosis es bioquímica y morfológicamente diferente a la necrosis (Tabla I).¹⁵

Durante la apoptosis el núcleo y el citoplasma se condensan, la célula se fragmenta en "cuerpos apoptóticos" rodeados de membrana que rápidamente son fagocitados y digeridos por macrófagos o células vecinas.^{16,17} Las células muestran fragmentación del ADN en fragmentos de 120 a 180 pares de bases, lo cual se conoce como patrón en escalera.¹⁸

En la fase efectora, convergen múltiples señales moleculares y existe una activación de proteasas que conducen a la célula al siguiente paso, que es la fase de degradación, en donde se presentan los cambios visibles como las alteraciones en la superficie celular, activación de endonucleasas y modificaciones en los componentes del citoesqueleto.¹⁹

La vía intrínseca se centra en la mitocondria como iniciadora de la muerte celular, ésta es activada por estrés extracelular e intracelular, como el estrés oxidativo y el tratamiento con medicamentos citotóxicos. Las señales apoptóticas conducen a la liberación de citocromo c del espacio inter-membranal de la mitocondria hacia el citosol.^{20,21} La liberación del citocromo C junto con el trifostato de adenosina (ATP), promueven la activación de la caspasa 9 mediada por el Apaf-1 (*Apoptotic-protease activating factor-1*), formando un complejo llamado apoptosoma que activa a la caspasa 3, ésta a su vez, activa a la caspasa 6 y ambas actúan sobre componentes de la envoltura nuclear.²²

La vía extrínseca es mediada por receptores localizados en la membrana plasmática. Los receptores de muerte típicos son Fas y los receptores del factor de necrosis tumoral (TNF-R), que pertenecen a la familia de receptores del TNF y contienen un dominio de muerte citosólico (DD).^{20,22} La cascada de señalización iniciada por el receptor conduce al reclutamiento de la caspasa 8 o 10 al complejo de señalización inductor de muerte (DISC). Esta vía de muerte celular extrínseca puede funcionar independientemente de la mitocondria.²⁰

Otras enzimas como la proteína quinasa activada por mitógenos (MAP-K), también se han implicado en la inducción de la apoptosis. Existen tres principales familias de MAP-K (ERK, JNK / SAPK y p38) las cuales tienen potentes sistemas de transducción de señales, entre los que destaca la familia p38 quinasa, regula la inducción de apoptosis, con o

Tabla 1. Diferencias entre apoptosis y necrosis

Apoptosis	Necrosis
Genéticamente programada	Aparece de manera sorpresiva
Ataca células individuales	Daño masivo
La membrana plasmática permanece viable	La célula presenta turgencia y la membrana se rompe
Formación de cuerpos apoptóticos	Debridadas celulares
Fragmentos del ADN 180 pares de bases	Si hay inflamación
No hay inflamación	

sin activación de las caspasas.^{13,14}

Rituximab

El tratamiento del LNH con anticuerpos monoclonales (AcMo) ha proporcionado un enfoque terapéutico alternativo. Su uso permite el aprovechamiento de los marcadores de superficie celular, brindando más especificidad y menos efectos colaterales que los tratamientos tradicionales de quimioterapia.

El Rituximab (RTX) es un anticuerpo anti-CD20 monoclonal quimérico (ratón/humano), desarrollado mediante ingeniería genética, utilizado para el tratamiento en pacientes con recaída o refractarios al tratamiento de LNH de células B de bajo grado y en pacientes con recaída en etapas III/IV de linfoma folicular.²³⁻²⁵ Se ha utilizado solo o en combinación con quimioterapia.²⁶

El RTX reconoce al antígeno de superficie CD20, una proteína de membrana de 33-37 kD, cuya función aún se desconoce y que se expresa en los linfocitos B maduros y pre-B.^{27,28}

El dominio Fab del RTX se une al antígeno CD20, mientras que el dominio Fc puede reclutar células con actividad citotóxica como monocitos-macrófagos. De la porción Fab del RTX depende la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) que median la lisis de las células B.^{23,29}

Como resultado del efecto directo de la unión del anticuerpo a su receptor afín CD20, el RTX media funciones como la señalización celular y quimiosensibilización e inmunosensibilización. Estos efectos no requieren de la participación o la cooperación del fragmento Fc de RTX, ya sea con los receptores Fc de las células tumorales o con el de las células del hospedero in vivo.²⁹

En este tenor, en la actualidad se sabe que el RTX induce la muerte celular por apoptosis a través de la inhibición de factores de transcripción MAP-K, p38, NF-κB, Sp-1, inhibiendo genes de supervivencia de la familia Bcl-2 o YY1 que participan en la expresión del ligando de Fas.^{30,31}

En cultivos de células mononucleares provenientes de pacientes con LNH-B tratadas con RTX, en las que se utilizó el inhibidor SB203580, se bloqueó la actividad de p38 por completo.³² Se observó que existe una dependencia de la activación p38 MAP quinasa para la inducción de apoptosis mediada por CD20. Sin embargo, los resultados mostraron la dependencia en la activación de MAP-K p38 para la inducción de apoptosis mediada por CD20. No obstante, la completa inhibición de la actividad de p38, solo resulta en una parcial inhibición de la apoptosis.^{32,33}

Análisis adicionales revelaron que la inhibición de Bcl-xL/Bcl-2 por el RTX resulta por bloqueo de la vías de señalización p-30 MAP-K/NF-κB/ERK1/2, favoreciendo la quimio-inmuno-sensibilización de tumores LNH-B resistentes.²³ Estudios recientes demuestran que el RTX sobrerregula la expresión de Fas y sensibiliza al LNH-B a la inducción de apoptosis por Fas vía inhibición del YY1.³⁰

Se demostró que el RTX inhibe el factor de transcripción NF-κB de las células B. En células inactivas, el NF-κB está vinculado a IκB, el cual secuestra al NF-κB en el citoplasma e

impide que llegue al núcleo, evitando la activación de genes blanco que participan en el proceso de supervivencia celular y generación de citocinas proinflamatorias, incluyendo el TNF-α entre otros. El NF-κB es liberado en condiciones de estrés celular por degradación de IκB, donde residuos específicos de serina 32 en el N-terminal del IκB son fosforilados conduciendo a su ubiquitinización, siendo degradado por el proteasoma.^{34,35}

El papel de las células B en procesos autoinmunes ha conducido a estudios donde se investiga al RTX como terapia. El éxito llegó por primera vez en la artritis reumatoide, en estudios controlados donde se han demostrado efectos benéficos. Desde entonces, el RTX se ha estudiado en otros trastornos autoinmunes como enfermedades del sistema nervioso central y periférico, como esclerosis múltiple remitente, esclerosis múltiple primaria progresiva, neuromielitis óptica, miastenia gravis, dermatomiositis, polimiositis, entre otros, con resultados alentadores.³⁶⁻³⁸

Al parecer en este tipo de enfermedades presenta mecanismos similares de acción activando ADCC y la CCD, así mismo, se ha observado que disminuye el factor reumatoide y elimina las células B al mes de tratamiento.

Conclusiones

El RTX es un anticuerpo versátil y útil en el tratamiento de los LNH. El conocimiento de su mecanismo de acción es importante, ya que permitirá el establecimiento de nuevos enfoques y esquemas terapéuticos en diferentes campos de aplicación como el de las enfermedades autoinmunes.

Por otra parte, a más de cien años de distancia, estos estudios brindan un sólido punto de apoyo al concepto de bala mágica, establecido por el Premio Nobel Paul R. Ehrlich en 1908.

Referencias bibliográficas

1. Zelenetz A.D., et al., Non-Hodgkin's Lymphomas. *J Natl Compr Canc Netw*. 9(5): p. 484-560.
2. Jaffe ES, et al, World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues. A progress report. *Am J Clin Pathol*, 1999. 111(1 Suppl 1): p. S8-12.
3. Vega MI, et al, Rituximab (chimeric anti-CD20) sensitizes B-NHL cell lines to Fas-induced apoptosis. *Oncogene* 2005; 24(55): p. 8114-27.
4. Alexander DD, et al, The non-Hodgkin lymphomas: a review of the epidemiologic literature. *Int J Cancer*, 2007. 120 Suppl 12: p. 1-39.
5. INEGI, 2007.
6. Solís-Poblanco JC, C.-d.A.M.d.I.L., Pegfilgrastim en el tratamiento del linfoma no Hodgkin. Informe sobre cinco casos. *GAMO Vol. 9 Núm. 3*, mayo – junio 201, 2010.
7. Fisher RI, et al, Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*, 1993. 328(14): p. 1002-6.
8. Czuczman MS, et al, Rituximab in combination with CHOP or fludarabine in low-grade lymphoma. *Semin Oncol*, 2002. 29(1 Suppl 2): p. 36-40.
9. Mathe G, et al, BCG in cancer immunotherapy: experimental and clinical trials of its use in treatment of leukemia minimal and or residual disease. *Natl Cancer Inst Monogr*, 1973. 39: p. 165-75.
10. Mathe G, et al, Follow-up of the first (1962) pilot study of active immunotherapy of acute lymphoid leukaemia: a critical discussion. *Biomedicine*, 1977. 26(1): p. 29-35.
11. Hernandez-Flores G, et al, In vitro induction of apoptosis in acute myelogenous and lymphoblastic leukemia cells by adriamycin is increased by pentoxifylline. *Presse Med* 39(12): p. 1330-1.
12. Dominguez-Rodriguez JR, et al, In vivo inhibition by antioxidants of adriamycin-induced apoptosis in murine peritoneal macrophages. *Anticancer Res* 2001. 21(3B): p. 1869-72.
13. Bravo-Cuellar A, et al, Sensitization of cervix cancer cells to Adriamycin by

- Pentoxifylline induces an increase in apoptosis and decrease senescence. *Mol Cancer*, 9: p. 114.
14. Bravo-Cuellar A, *et al*. In vivo modification of adriamycin-induced apoptosis in L-5178Y lymphoma cell-bearing mice by (+)-alpha-tocopherol and superoxide dismutase. *Cancer Lett*, 2005. 229(1): p. 59-65.
 15. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*, 2007. 35(4): p. 495-516.
 16. Shi Y. Caspase activation, inhibition, and reactivation: a mechanistic view. *Protein Sci*, 2004. 13(8): p. 1979-87.
 17. Green DR and Kroemer G. Pharmacological manipulation of cell death: clinical applications in sight? *J Clin Invest*, 2005. 115(10): p. 2610-7.
 18. Ashwell JD, *et al*. Coming to terms with death: apoptosis in cancer and immune development. *Immunol Today*, 1994. 15(4): p. 147-51.
 19. Kroemer G, *et al*. The biochemistry of programmed cell death. *FASEBJ*, 1995. 9(13): p. 1277-87.
 20. Packham G. and Stevenson FK. Bodyguards and assassins: Bcl-2 family proteins and apoptosis control in chronic lymphocytic leukaemia. *Immunology*, 2005. 114(4): p. 441-9.
 21. Schinoni MI, Parana R, and Cavalcante D. Apoptosis and progression of hepatic fibrosis in hepatitis C patients. *Braz J Infect Dis*, 2006. 10(2): p. 117-21.
 22. Lawen A. Apoptosis-an introduction. *Bioessays*, 2003. 25(9): p. 888-96.
 23. Vega MI, *et al*. Rituximab-mediated cell signaling and chemo/immunosensitization of drug-resistant B-NHL is independent of its Fc functions. *Clin Cancer Res*, 2009. 15(21): p. 6582-94.
 24. Reff ME, *et al*. Depletion of B cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood*, 1994. 83(2): p. 435-45.
 25. Seymour JF. New treatment approaches to indolent non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Oncol*, 2004. 31(1 Suppl 2): p. 27-32.
 26. Czuczman MS, *et al*. Treatment of patients with low-grade B-cell lymphoma with the combination of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody and CHOP chemotherapy. *J Clin Oncol*, 1999. 17(1): p. 268-76.
 27. Stashenko P, *et al*. Characterization of a human B lymphocyte-specific antigen. *J Immunol*, 1980. 125(4): p. 1678-85.
 28. Tedder TF, McIntyre G, and Schlossman SF. Heterogeneity in the B1 (CD20) cell surface molecule expressed by human B-lymphocytes. *Mol Immunol*, 1988. 25(12): p. 1321-30.
 29. Wines BD, *et al*. The IgG Fc contains distinct Fc receptor (FcR) binding sites: the leukocyte receptors Fc gamma RI and Fc gamma RIIa bind to a region in the Fc distinct from that recognized by neonatal FcR and protein A. *J Immunol*, 2000. 164(10): p. 5313-8.
 30. Vega MI, *et al*. Rituximab-induced inhibition of YY1 and Bcl-xL expression in Ramos non-Hodgkin's lymphoma cell line via inhibition of NF-kappa B activity: role of YY1 and Bcl-xL in Fas resistance and chemoresistance, respectively. *J Immunol*, 2005. 175(4): p. 2174-83.
 31. Vega MI, *et al*. Rituximab inhibits p38 MAPK activity in 2F7 B NHL and decreases IL-10 transcription: pivotal role of p38 MAPK in drug resistance. *Oncogene*, 2004. 23(20): p. 3530-40.
 32. Pedersen IM, *et al*. The chimeric anti-CD20 antibody rituximab induces apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells through a p38 mitogen activated protein-kinase-dependent mechanism. *Blood*, 2002. 99(4): p. 1314-9.
 33. Johnson P. and Glennie M. The mechanisms of action of rituximab in the elimination of tumor cells. *Semin Oncol*, 2003. 30(1 Suppl 2): p. 3-8.
 34. Sinha BK, *et al*. Enzymatic activation and binding of adriamycin to nuclear DNA. *Cancer Res*, 1984. 44(7): p. 2892-6.
 35. Maheo K, *et al*. Differential sensitization of cancer cells to doxorubicin by DHA: a role for lipoperoxidation. *Free Radic Biol Med*, 2005. 39(6): p. 742-51.
 36. Arkfeld DG. The potential utility of B cell-directed biologic therapy in autoimmune diseases. *Rheumatol Int*, 2008. 28(3): p. 205-15.
 37. Linker RA, Kieseier BC, and Gold R. Identification and development of new therapeutics for multiple sclerosis. *Trends Pharmacol Sci*, 2008. 29(11): p. 558-65.
 38. Waubant E. Spotlight on anti-CD20. *Int MS J*, 2008. 15(1): p. 19-25.