

Proyectiles nucleares inteligentes

La radioterapia metabólica

Investigar anticuerpos monoclonales y péptidos es un cambio básico en el desarrollo farmacéutico: no es lo mismo usar las capacidades orgánicas como fuente de medicamentos, que considerar al organismo un simple tubo de ensayo.

Guillermina Ferro Flores y Consuelo Arteaga de Murphy

INTRODUCCIÓN

Usualmente, para tratar el cáncer se usan la cirugía, la quimioterapia o la terapia con radiaciones. Aunque la cirugía puede ser muy efectiva y algunas veces sirve para acabar con los tumores, la presencia de tumores secundarios o metástasis, o de tumores inoperables, no deja más opción que la quimioterapia o la radioterapia. Si los agentes quimioterapéuticos o las radiaciones pudieran ser administradas selectivamente al tumor, sería posible evitar, o al menos reducir, la indeseable toxicidad que los acompaña y mejorar la eficacia del tratamiento. Por tanto, la terapia del cáncer, para ser efectiva, debería tener un alto reconocimiento selectivo y aniquilar las unidades individuales del cáncer llamadas células malignas.

La conjunción química entre una *molécula acarreadora* o *vector*, altamente selectivo, y un elemento radiactivo terapéutico, diseñados en forma farmacéutica, se denomina *radiofármaco terapéutico*. La radioterapia metabólica o dirigida es el trata-

miento con radiofármacos que se dirigen específicamente hacia el tumor, proporcionando una dosis eficaz de radiación selectiva que destruye las células malignas sin dañar los tejidos sanos. Con la finalidad de desarrollar radiofármacos efectivos para terapia, es necesario seleccionar cuidadosamente el elemento radiactivo apropiado en conjunción con la

localización, la duración y la eliminación de la molécula acarreadora dentro del cuerpo. Muchos factores fisiológicos y bioquímicos influyen en la localización *in vivo* y en la eliminación del radiofármaco, y de ello dependerá la dosis de radiación y la respuesta biológica de las células que se desea atacar respecto a los demás tejidos o sistemas corporales.

Un tumor representa un crecimiento anormal de células como resultado de mutaciones o activaciones anormales de genes que controlan el ciclo de vida celular. Los tumores pueden tener carácter benigno o maligno. La principal diferencia es que las células del tumor maligno pueden invadir los tejidos circundantes y, consecuentemente migrar y diseminarse a través del cuerpo, produciendo tumores secundarios. Las células de tumores benignos, en cambio, pueden ser similares a las células normales.

La radioterapia metabólica es el tratamiento con radiofármacos dirigidos específicamente hacia el tumor

Cuando las células normales o las benignas se transforman en las llamadas células malignas diferenciadas, pierden algunas funciones específicas y desarrollan otras, además presentan alteraciones características en sus genes, su crecimiento, su morfología, su metabolismo y otras características.

Es muy probable que la radioterapia metabólica tenga pronto una gran expansión, pues existen estructuras moleculares de reconocimiento, en particular moléculas llamadas receptores, que se hallan en las membranas de las células y que permiten hacer llegar el radiofármaco al blanco deseado, donde es posible depositar la dosis de radiación con una mínima afectación de las estructuras vecinas.

Cuando los radiofármacos se incorporan al tumor, deben liberar una cantidad suficiente de dosis de radiación para producir una respuesta terapéutica. La dosimetría en medicina nuclear se encarga de determinar la dosis de radiación (que se define como la energía promedio que es depositada por unidad de masa) que reciben un órgano y sus tejidos vecinos como consecuencia de la captación de alguna cantidad de radiofármaco. Los cálculos de dosimetría interna permiten evaluar el balance riesgo/beneficio de los tratamientos y los efectos clínicos observados.

ANTICUERPOS MONOCLONALES

Una estrategia importante de la inmunoterapia es el empleo de *anticuerpos monoclonales*: proteínas del sistema inmunitario que se adhieren a moléculas extrañas específicas, entre ellas las que se hallan en la superficie de las cé-

lulas cancerosas, y que las marcan para que otros componentes del sistema inmunitario procedan a su aniquilación, o bien para que se destruyan ellas mismas (en un proceso conocido como *apoptosis* o muerte celular programada). Los anticuerpos pueden también señalar y atacar los vasos sanguíneos que nutren el tumor o el tejido conectivo que le da soporte, o también pueden bloquear sustancias llamadas *factores de crecimiento*, que el tumor requiere para su desarrollo.

Los anticuerpos son proteínas complejas. Cada anticuerpo tiene dos sitios de unión para el antígeno (la sustancia específica a la que se puede adherir). Hace más de 20 años se comenzaron a producir los llamados anticuerpos monoclonales. En aquel entonces se pensaba que se había obtenido la “bala mágica” para atacar el cáncer, ya que se confiaba en que, mediante el reconocimiento de antígenos específicos, los anticuerpos se asentarían en las células cancerosas para facilitar el ataque del sistema inmunitario, que acabaría con el tumor, y dejarían intactas a las células normales. Desafortunadamente, cuando los anticuerpos fueron inyectados en humanos, su distribución dentro del cuerpo no fue tan específica como se esperaba; se obtuvo el comportamiento normal de una proteína, pues aquéllos iban siendo eliminados lentamente de la sangre como cualquier otra proteína y acumulándose en el hígado y en otros órganos, al grado de que los investigadores pensaron que la técnica había fracasado.

La realidad de la situación, sin embargo, es mucho más positiva. La idea no ha perdido vigencia, y la terapia con anticuerpos monoclonales se ha convertido en un campo multidisciplinario en el que los avances científicos han incrementado notoriamente la especificidad deseada.

Después de 20 años, la terapia con anticuerpos monoclonales, particularmente contra los tumores llamados *linfomas no Hodgkin*, comienza a vislumbrarse como una realidad con la introducción reciente, por parte de importantes firmas farmacéuticas, de anticuerpos monoclonales como el rituximab (Rituxan[®]), el ⁹⁰Y-ibritumomab (Zevalin[®]) y el ¹³¹I-tositumomab (Bexxar[®]), todos ellos contra el antígeno de superficie CD20, que abunda en la superficie de los linfocitos B (Hainsworth, 2000).

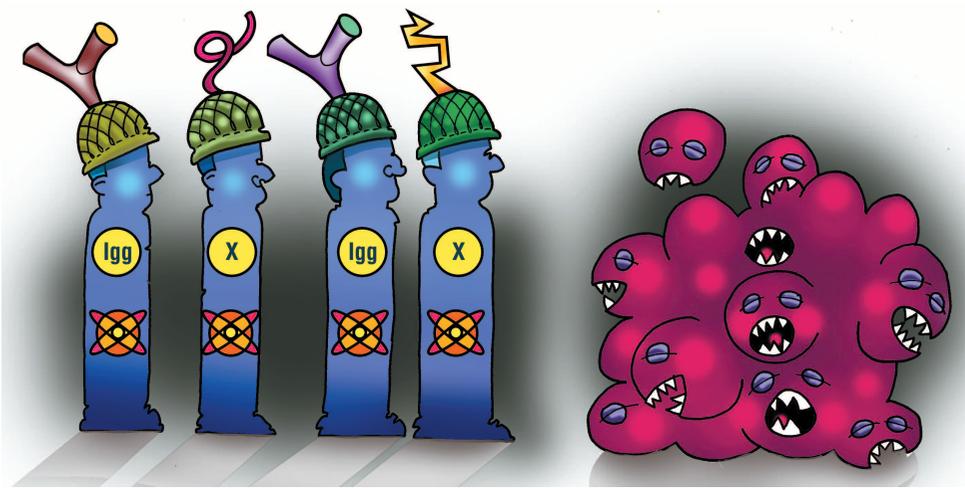
Para el caso de tumores sólidos, el éxito no es tan contundente, aunque sí puede mencionarse, por ejemplo, el trastuzumab (Herceptin[®]), el cual se une a un receptor conocido como HER2, proteína reguladora del crecimiento celular y anormalmente abundante en aproximadamente 30% de los casos de cáncer de mama, tumor cuyo crecimiento suele disminuir.

Las investigaciones con anticuerpos monoclonales y péptidos (fragmentos de proteínas) representan un cambio sustancial en los paradigmas del desarrollo farmacéutico, al emplear las propias capacidades orgánicas como fuente de medicamentos, en lugar de considerar al organismo como un simple tubo de ensayo donde actúan moléculas extrañas, como la mayoría de los medicamentos “tradicionales”.

El anticuerpo monoclonal es como una “bala” lenta que marca al tumor, dado que en muchas lesiones requiere de dos a tres días para acumularse. La alta especificidad de los anticuerpos podría aprovecharse al máximo dejando que la radiactividad se liberara cuando la mayor parte del anticuerpo monoclonal estuviera unido al tumor, y no al tejido normal. Para ello, la molécula portadora del elemento radiactivo debería depurarse rápidamente y ser capturada por el anticuerpo unido a las células tumorales. Tomando en cuenta esta consideración, varios grupos han dedicado sus esfuerzos al desarrollo del concepto de “premarcado de tumor”, que se basa en la administración del anticuerpo monoclonal y del elemento radiactivo por separado. Con esta técnica, el elemento radiactivo es usado para la terapia directa en la lesión, donde ya está localizado el anticuerpo monoclonal. El elemento radiactivo se administra cuando la mayoría del anticuerpo monoclonal ha sido eliminado de la sangre y de los tejidos normales, lográndose así altas concentraciones del anticuerpo en el tumor y bajas concentraciones en las células normales (Cremonesi y cols., 1999; Weiden y cols., 2000).

El complejo avidina-biotina consiste en una molécula llamada avidina (una glucoproteína) que puede unirse a cuatro moléculas de la proteína biotina. La unión avidina-biotina es la interacción bioquímica (no covalente) más fuerte conocida hasta ahora en la naturaleza: es un millón de veces más fuerte que la interacción entre un anticuerpo y su antígeno. La formación del enlace entre la biotina y la avidina es muy rápido, y una vez formado no se afecta por pHs extremos, como tampoco por la temperatura ni por agentes desnaturizantes de

proteínas. Por tanto, el anticuerpo monoclonal puede ser enlazado a varias moléculas de biotina para que, una vez captado por el tumor, pueda administrarse avidina seguida de biotina radiomarcada (Figura 1). Los complejos de anticuerpos monoclonales y biotina unidos a elementos radiactivos, preparados para la técnica de premarcado avidina-biotina, han demostrado, en modelos animales, su potencial para ser utilizados en radioterapia dirigida (Figura 2) (Ferro y cols., 1999a; Ferro y cols., 1999b).



Es muy probable que la radioterapia metabólica tenga pronto una gran expansión

Cuando los anticuerpos monoclonales fueron inyectados en humanos, su distribución no fue tan específica como se esperaba

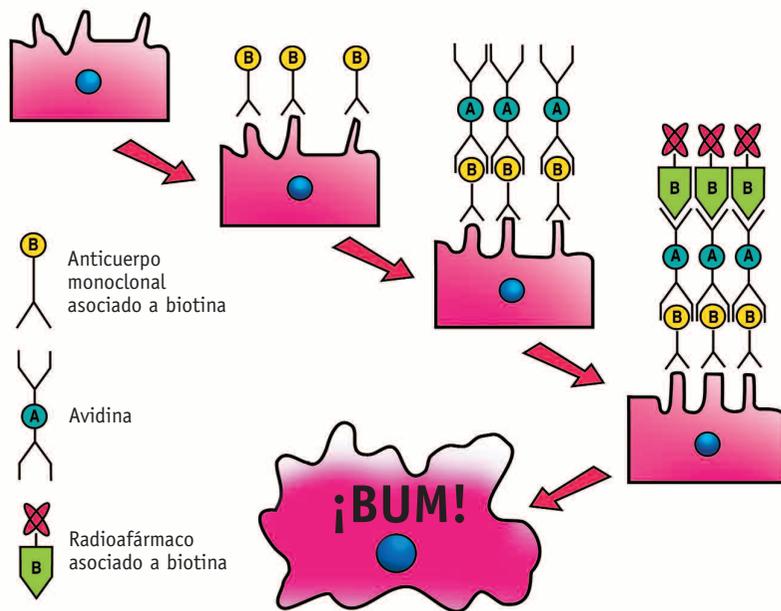


Figura 1. Destrucción de células tumorales mediante el uso de anticuerpos monoclonales y radiofármacos. En una primera fase, las células tumorales son detectadas mediante el uso de anticuerpos monoclonales conjugados con biotina, que han sido preparados en contra de sus antígenos específicos. En una segunda fase, los anticuerpos unidos a las células tumorales son marcados por moléculas de avidina, que serán reconocidas, a su vez, por el radiofármaco escogido para la destrucción del tumor. El radiofármaco está, por su parte, conjugado a la biotina, y esto le permite localizar las células tumorales en forma específica.

PÉPTIDOS ANÁLOGOS DE LA SOMATOSTATINA

Los péptidos son cadenas de aminoácidos. Diseñados por la naturaleza para estimular, regular o inhibir numerosas funciones de la vida, actúan principalmente como transmisores de información y como coordinadores de actividades de varios tejidos en el organismo.

Comparados con los anticuerpos, los péptidos pequeños ofrecen varias ventajas: son fáciles de fabricar y modificar, es menos probable que causen respuesta inmunitaria y pueden tener una rápida depuración sanguínea. En muchos casos, la afinidad de los péptidos pequeños por sus receptores es significativamente mayor que la de los anticuerpos o sus fragmentos.

La somatostatina es una hormona peptídica constituida por 14 aminoácidos. Está presente en el hipotálamo, la corteza cerebral, el cerebro, el tracto gastrointestinal y el páncreas. Los receptores de la somatostatina se han identificado en varias células de origen neuroendocrino. Dado que la vida media biológica de la somatostatina es de segundos, se han preparado diversos péptidos pequeños similares a ella.

Varios tumores, sean o no de origen neuroendocrino, contienen gran número de receptores de somatostatina. Por ello, la localización *in vivo* de tumores primarios y secundarios por la técnica de centelleografía es posible mediante el empleo de análogos radiomarcados de la somatostatina. Asimismo, los granulomas y los procesos autoinmunes pueden también ser visualizados gracias a la acumulación local de células sanguíneas llamadas *leucocitos mononucleares*, que tienen receptores de somatostatina activados.

Las aplicaciones exitosas en centelleografía de estos análogos de la somatostatina radiomarcados para la localización de linfomas, granulomatosis, meningiomas y cáncer pulmonar, sobre todo en Europa, nos hablan de la promisión que tiene investigar otro tipo de péptidos radiomarcados, tanto nativos como derivados de éstos, en oncología nuclear. La principal ventaja de los péptidos es su rápida eliminación de la sangre, con lo que se obtiene un bajo fondo de radiactividad. Podría-

mos decir que estos péptidos son una buena y factible opción a los anticuerpos monoclonales.

Uno de estos péptidos análogos de la somatostatina que se ha marcado con renio-188 es el llamado *lanreotide* (Meléndez y cols., 1999), el cual se capta en tumor de cuello uterino y ofrece muchas posibilidades para terapia en humanos (Murphy y cols., 2001; Ferro y cols., 2002) (Figura 3).

RADIOFÁRMACOS COMO PALIATIVOS DEL DOLOR EN METÁSTASIS ÓSEAS

El dolor es una de las más temidas secuelas del cáncer, y no sin razón. Los estudios revelan que dos tercios del total de enfermos de cáncer en fase avanzada padecen graves sufrimientos. Aliviar sus dolores es de importancia vital, no sólo como fin en sí, sino también para aumentar las expectativas de supervivencia del paciente. El dolor puede menguar la voluntad del enfermo para continuar el tratamiento, e incluso hacerle perder el deseo de vivir. Las investigaciones, además, han permitido comprender de qué modo puede influir en el estado de ánimo de una persona y en la percepción que tiene de su enfermedad. Por ejemplo, quienes se han sometido a una operación quirúrgica que ofrece grandes posibilidades de eliminar el mal pueden considerar más soportables sus dolores, transitorios aunque agudos, que quienes sufren dolores crónicos a causa de lo avanzado de su enfermedad. La depresión también puede exacerbar la percepción del dolor. El control del dolor está directamente ligado a la calidad de vida del paciente con cáncer.

Una parte de las prácticas oncológicas están dedicadas a la paliación del dolor en pacientes que han desarrollado uno o varios tumores secundarios en huesos, comúnmente frente a cánceres primarios de mama, pulmón y próstata. El 85% de los pacientes con estas patologías presentan invasión de células tumorales óseas. Es posible que el crecimiento tumoral comprima las terminaciones nerviosas y produzca la liberación de diversas sustancias que estimulan los receptores específicos del dolor. Por lo general, estos pacientes son tratados con analgésicos o con radioterapia externa. En el caso de los analgésicos, su consumo puede llegar a ser tan alto que el enfermo se mantiene la mayor parte del tiempo en un estado de inconsciencia que lo lleva a la muerte por inanición e inmovilidad, más que por el cáncer mismo. Otro tratamiento de elección consiste en la irradiación externa con haces de radiación hacia el sector afectado. Sin embargo, un problema común en este grupo de pacientes es el desarrollo de múltiples sitios de dolor que a menudo ocurren

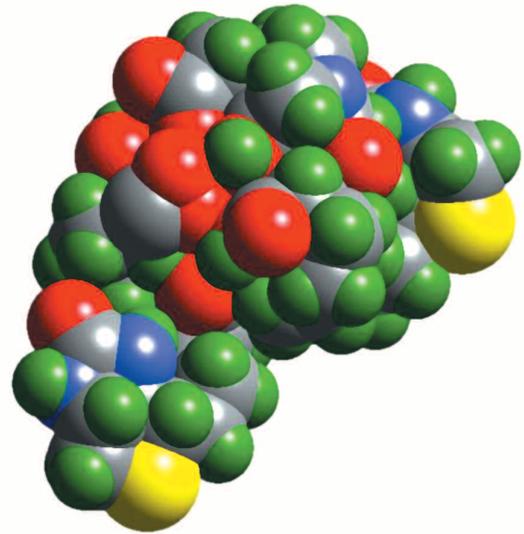


Figura 2. Molécula de biotina unida a samario-153, diseñada y preparada en el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, para usarla con cualquier tipo de anticuerpo monoclonal en estrategias de radioterapia metabólica o dirigida.

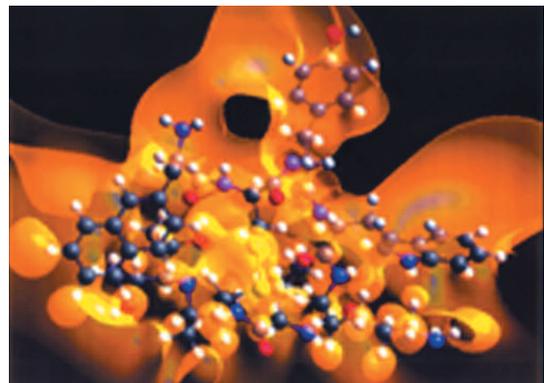


Figura 3. Estructura del péptido lanreotide calculada por la teoría de la densidad funcional. En la parte derecha se observa la región biológicamente activa, formada por los tres últimos aminoácidos libres, probablemente por interacción electrostática. (Murphy y cols., 2001.)

secuencialmente y requieren radioterapia dirigida a todos ellos. Este tratamiento puede provocar problemas en la médula ósea, así como trastornos gastrointestinales y pulmonares.

El consumo de analgésicos puede ser tan alto que el enfermo se mantiene mucho tiempo en estado de inconsciencia

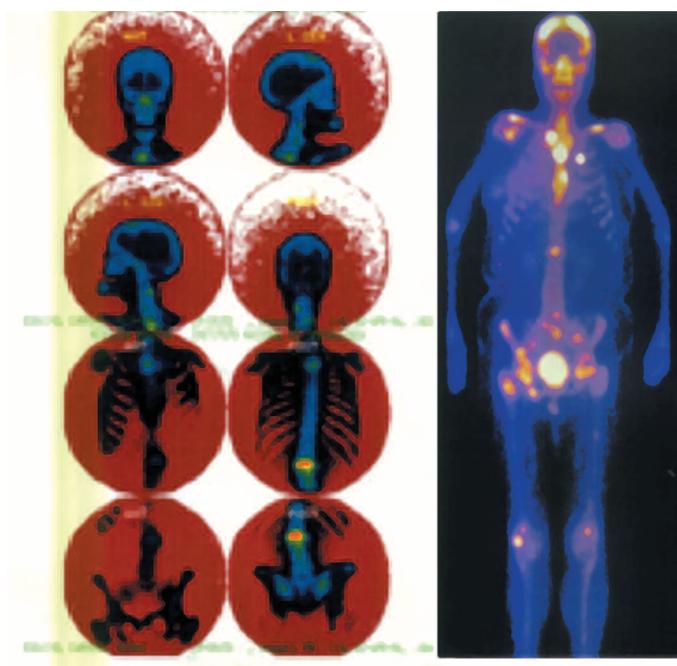


Figura 4. Imagen gammagráfica de un paciente con múltiples lesiones óseas malignas que respondió al tratamiento con un aminofosfonato marcado con samario-153 (etilendiaminotetrametilfosfonato), producido en el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares.

Desde 1942, el compuesto llamado ^{32}P -ortofosfato, que contiene fósforo-32 radiactivo, administrado en forma endovenosa, se utilizó como agente paliativo del dolor en pacientes con cáncer, pero su éxito se vio opacado por su severa toxicidad en la médula ósea. Posteriormente se introdujo el cloruro de estroncio-89; sin embargo, el estroncio-89 sólo emite radiación β , y como primer requisito para calcular las dosis personalizadas para los pacientes, el elemento radiactivo debe también emitir rayos γ para poder obtener imágenes gammagráficas y, consecuentemente, realizar estudios del comportamiento del radiofármaco en el cuerpo vivo.

El samario-153 emite una energía β suficiente para penetrar unos pocos milímetros a través de la superficie ósea, que es donde están localizadas las células tumorales, sin llegar a comprometer severa o irreversiblemente la función de la médula ósea. Emite rayos γ para la obtención de imágenes gammagráficas de su distribución biológica, lo cual permite realizar los cálculos de dosis absorbida *in vivo*; y forma complejos estables con compuestos llamados *aminofosfonatos*, que son absor-

bidos dentro de la matriz de hidroxiapatita del hueso para posteriormente permanecer *in vivo* como un compuesto inmóvil. El radiofosfonato de samario puede prepararse con alto rendimiento radioquímico en forma farmacéutica inyectable (Ferro y cols., 1996). Los estudios clínicos hechos en México con la utilización de esta preparación demostraron la gran estabilidad *in vivo* del radiocomplejo y una respuesta satisfactoria para el alivio del dolor en un promedio de 78 a 80% aproximadamente de 250 casos tratados de pacientes con cáncer de próstata y mama, con una duración media, por una sola inyección, de tres meses y sin terapia con analgésicos (Barrios y Gordon, 1999). En algunos pacientes, el alivio se consiguió en la primera o en la segunda semana de la aplicación, y con mejoría progresiva. El beneficio del tratamiento, como antes se mencionó, se puede mantener por varios meses, permitiendo que el enfermo tenga movilidad (Figura 4).

CONCLUSIONES

El diseño de un radiofármaco efectivo para radioterapia metabólica involucra aspectos químicos, fisiológicos, bioquímicos y físicos. Se utilizan moléculas como vectores para transportar

elementos radiactivos que depositen su energía en las células dañadas, con objeto de destruirlas. Los vectores pueden ser moléculas inorgánicas y orgánicas. La captación por el tumor y la eliminación del radiofármaco dependen de sus propiedades fisicoquímicas. Además, el efecto letal está ligado a las características propias del tumor.

Los aspectos que se tienen que tomar en cuenta al diseñar un radiofármaco terapéutico son: a) la posible interferencia del elemento radiactivo con la especificidad de la unión; b) la afinidad propia de la biomolécula a las células blanco; c) el tiempo de residencia en la célula tumoral; d) el metabolismo del radiofármaco, y e) la rápida eliminación del radiofármaco del tejido sano.

La eficacia de la radioterapia metabólica se mide determinando la dosis absorbida por el paciente, por lo cual la dosimetría individualizada ofrece la posibilidad de optimizar la dosis que recibe el tejido tumoral por medio de estudios individuales.

BIBLIOGRAFÍA

- Barrios, I., y F. Gordon (1999), "Tratamiento paliativo del dolor óseo con Sm-153-EDTMP en pacientes con cáncer", *Rev. Med. IMSS*, 37:181-184.
- Cremonesi, M., M. Ferrari, M. Chinol, M. G. Stabin, C. Grana, G. Prisco y G. Paganelli (1999), "Three-step radioimmunotherapy with yttrium-90 biotin: Dosimetry and pharmacokinetics in cancer patients", *Eur. J. Nucl. Med.*, 26:110-120.
- Ferro, G., F. M. Ramírez, G. Martínez, C. A. Murphy, M. Pedraza y L. García (2002), "Peptide labeling using ^{188}Re , $^{188}\text{Re-MAG}_3$ and $^{153}\text{Sm-H}_1\text{ETA}$: A comparison on their in vitro lipophilicity", *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 251(1):7-13.
- Ferro, G., G. Pimentel, M. A. González, C. A. Murphy, L. Meléndez, J. I. Tendilla y B. Y. Croft (1999a), "Preparation, biodistribution and dosimetry of ^{188}Re -labeled MoAb iorcea1 and its F(ab')_2 fragments by avidin-biotin strategy", *Nucl. Med. Biol.*, 26:57-62.
- Ferro, G., F. M. Ramírez, J. I. Tendilla, G. Pimentel, C. A. Murphy, L. Meléndez, J. A. Ascencio y B. Y. Croft (1999b), "Preparation and pharmacokinetics of Sm(III)-153 labeled DTPA-bisBiotin. Characterization and theoretical studies of the Sm(III)-152 conjugate", *Bioconjugate Chem.*, 10(5):726-734.
- Ferro, G., J. I. Tendilla, M. A. López, M. A. González, L. Pa-redes, E. Ávila y F. Aguilar (1996), "Kit preparation of $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ and factors affecting radiochemical purity and stability", *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, 204(2): 303-311.
- Hainsworth, J. D. (2000), "Monoclonal antibody therapy in lymphoid malignancies", *The Oncologist*, 5:376-384.
- Meléndez, L., G. Ferro, C. A. Murphy, M. Pedraza, J. I. Tendilla, M. A. González y L. García (1999), "Labeling peptides with rhenium-188", *Int. J. Pharmaceutics*, 182(2):165-172.
- Murphy, C. A., M. Pedraza, G. Ferro, E. Murphy, M. L. Chávez, J. A. Ascencio, S. L. García y G. S. Hernández (2001), "Uptake of $^{188}\text{Re-}\beta$ -naphthyl-peptide in cervical carcinoma tumours in athymic mice", *Nucl. Med. Biol.*, 28(3):7-14.
- Weiden, P. L., H. B. Breitz, O. Press, J. M. Appelbaum, J. K. Bryan y S. Gaffigan (2000), "Pretargeted radioimmunotherapy (PRIT) for treatment of non-Hodgkin's lymphoma (NHL): Initial phase I/II study results", *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 15(1):15-28.

Guillermina Ferro Flores es doctora en ciencias con especialidad en física médica e investigadora del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares. Trabaja en el desarrollo de radiofármacos para el sector salud. Su desempeño ha sido reconocido por la Sociedad Mexicana de Medicina Nuclear al otorgarle en cinco ocasiones el premio "Doctor Santos Briz Kanafani". En 1999 la Cámara Nacional de la Industria Farmacéutica la distinguió con Mención Honorífica del Premio CANIFARMA por el trabajo de investigación "Radiofármacos terapéuticos".

Consuelo Arteaga de Murphy es doctora en ciencias con especialidad en física médica e investigadora en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición. Es pionera de la investigación y el desarrollo de radiofármacos en México. Es reconocida como experta en radiofarmacia por el Organismo Internacional de Energía Atómica y como representante por América Latina ante la Sociedad Mundial de Medicina Nuclear.