

THE INTERNATIONAL REVIEWW OF THE ARMED FORCES MEDICAL SERVICES.

Mes de noviembre de 2000

BIOTERAPIAS ANTICANCERÍGENAS

Dr. José de Vicente González

Académico C. de las RR. AA. Nacional de Farmacia y CC. Veterinarias de España

“La calidad de la asistencia biosanitaria depende en muchos casos de la calidad de la investigación”.

Dr. Barbacid

Hasta hace pocos años se consideraba que las causas del crecimiento celular tenían su base en las vías responsables de su división y que el cáncer era la consecuencia de una proliferación incontrolada. Actualmente han cambiado estos conceptos al demostrarse que las células poseen unos mecanismos internos que marcan el momento de morir y su eliminación o alteración son las causas del desarrollo del cáncer.

La estabilidad genética participa en una parte clave de la maquinaria celular, cuya misión es asegurar que todos los sucesos relacionados con la duplicación de los cromosomas y la división celular tengan lugar en los momentos apropiados, manteniendo en todo el proceso una sincronía casi perfecta. Cuando aparece una mutación genética, alguno de los episodios de esa división celular tienen lugar sin el adecuado control, apareciendo finalmente un proceso tumoral.

Cuando nos referimos al término cáncer no lo concretamos a una patología definida, sino a varios cientos de enfermedades distintas. Un cáncer se diferencia de otro porque nos vamos a encontrar con células distintas, que se regulan de forma diferente, que responden de distinta manera y que en su transformación median genes diferentes.

El cáncer es el resultado de una serie de lesiones genéticas de la célula. La pérdida de control de la estabilidad genómica es un acontecimiento crucial en la carcinogénesis. Se trata de un complejo proceso con múltiples etapas.

Lo único que realmente cura el cáncer es la detección temprana y la cirugía. Con esta última se combaten un 40% de ellos, mientras la quimio y radioterapia son efectivas en un 5-10% de los casos.

Sin embargo, la meta que los científicos se están planteando es encontrar el fármaco que evite la transformación de las células sanas en cancerosas.

Dice el **Dr. Barbacid**, que los inhibidores de diseño, que son derivados de fármacos basados en dianas moleculares que no afectan a los elementos fundamentales de la célula sino a moléculas concretas, constituyen el futuro de la lucha contra el cáncer en los próximos años. Con esta nueva línea se superarán las toxicidades de la quimio y radioterapia. Estos fármacos, más específicos y sofisticados, no afectan a los principios básicos de la célula, como el ADN y el citoesqueleto. Van a constituir la base de la oncología moderna y su aplicación se va a basar en el conocimiento del patrón patogénico de cada tumor y en la utilización de compuestos específicos según cada tipo, si se considera el principio de que cada uno de ellos tiene mutados un número pequeño de genes.

La búsqueda de **farmacogenes anticancerígenos** se orienta tanto a la obtención de aquellos que frenan el crecimiento como a los que actúan sobre los mecanismos biológicos del proceso oncogénico.

- La **terapia génica** se basa en la aplicación de la biología molecular al estudio de los tumores, introduciendo genes que destruyen células contaminadas. El sincronismo entre oncólogos y

biólogos moleculares es fundamental. Si los primeros dan a conocer la evolución clínica de los tumores, los segundos nos van a desentrañar los entresijos de los factores que desencadenan sus distintos tipos, es decir, el desarrollo de aberraciones celulares derivadas de alteraciones moleculares.

- **La Bomba genética.** En el *Congreso de la Asociación Americana para la Investigación del Cáncer* celebrado en 1996 un equipo de investigadores norteamericanos de la *Universidad de Johns Hopkins* presentó la primera “*bomba de relojería genética*” contra el cáncer. Esta terapia se diseñó para ser introducida en el organismo y destruir células malignas cuando comienzan a producir determinadas proteínas que están asociadas con el cáncer.

Según el **Dr. Da Costa** el procedimiento se basa en un mecanismo idéntico al de cualquier bomba bélica: un detonante y un explosivo. Si la colocamos en una célula normal, no pasa nada; pero si la célula posee una proteína asociada al cáncer, la “bomba” al detectarla se pone en funcionamiento. Para el papel de carga explosiva se utilizó un gen que produce “*plurinucleosido fosforilasa*”, enzima que hace que un compuesto químico inofensivo se convierta automáticamente en un producto tóxico solamente para las células malignas. El primer modelo desarrollado por este equipo de investigadores se utilizó en células cancerígenas de pulmón. Estas células presentan una versión defectuosa del **gen p53**, que en este tipo de terapia funciona como detonador.

- **Protector de las células hemopoyéticas.** Los fármacos anticancerígenos están diseñados para destruir las células en división y las cancerígenas tiene la capacidad de hacerlo muy rápidamente. Las células hemopoyéticas poseen también esta capacidad, actuando de la misma manera dichos fármacos.

La proteína humana, denominada “*protector de las células hemopoyéticas*”, tiene la capacidad de reducir el daño causado en las mismas, previniendo su división durante el período crucial, es decir, cuando se están administrando los fármacos anticancerígenos. Las células tumorales siguen creciendo y, por tanto, permanecen vulnerables a los quimioterápicos.

Uno de los efectos del nuevo “*protector de las células hemopoyéticas*” es favorecer la entrada de estas células en el torrente circulatorio, según las necesidades. Estamos ante un fármaco de nueva generación, obtenidos por ingeniería genética, llamado a revolucionar el tratamiento del cáncer.

- **Los anticuerpos monoclonales.** Éstos **biofármacos** son conocidos popularmente como “*balas mágicas*”, porque destruyen selectivamente las células tumorales.

Los anticuerpos monoclonales están diseñados para rellenar un vacío que aparece en el sistema inmunológico. Mientras el organismo humano produce de forma natural anticuerpos para identificar y atajar las infecciones producidas por microorganismos, el cáncer se extiende porque el sistema inmune no reconoce las células afectadas como dañinas.

Estos agentes monoclonales se desarrollan como un complemento del sistema inmune, reconociendo y atacando las proteínas específicas expresadas en las células alcanzadas por el cáncer. El tratamiento antineoplásico utilizando estos anticuerpos permite actuar directamente sobre ellas.

Los anticuerpos monoclonales son proteínas elaboradas en el laboratorio cuyo objetivo es combatir específica y directamente las células cancerígenas. Estos pueden dirigirse directamente al tumor sin ningún otro elemento que les acompañe o junto a moléculas radioactivas, lo que incrementa su actividad en la lucha contra las células cancerosas. Esta simbiosis ha aumentado considerablemente su eficacia en el tratamiento de aquellos linfomas, que incluso son resistentes a la quimioterapia, obteniéndose resultados muy prometedores en el tratamiento de células tumorales, con la aparición de una remisión total o parcial, y observándose simultáneamente una adecuada tolerancia, siendo los efectos secundarios de fácil reversibilidad. Su principal objetivo es alcanzar un grupo de moléculas situadas en la superficie de las células cancerígenas, llamadas **CD20**.

Hay toxinas bacterianas, como la exotoxina de la *Pseudomona aeruginosa*, que han sido convertidas en “*balas mágicas*”, revolucionando algunos aspectos de la terapia anticancerosa.

Para conseguir “*balas mágicas*” necesitamos un medicamento basado en una molécula sencilla que interaccione solamente con las proteínas quinasas anormales en las células malignas.

- **Vacunas contra el cáncer.** Las vacunas de **ADN** constituyen el *eslabón perdido* entre las vacunas atenuadas y las vacunas vivas, ya que estas últimas infectan a la célula provocando una respuesta inmunológica contra el propio microorganismo; pero las de **ADN** no implican este riesgo al utilizarse sólomente aquella parte del código genético que nos interesa, siendo de fácil síntetización.

Estas nuevas vacunas tienen la misión de estimular el propio sistema inmune del organismo para reconocer y atacar a las células cancerosas preexistentes.

Según **Larry W. Kwak**, del *Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos en Bethesda*, “*activar las células T sería la panacea en la vacunación contra el cáncer*”. Unas experiencias llevadas a cabo con una vacuna hecha con **tirosinasa** y **QS21** han sido la causa del estímulo de las **células CD8+T inmunes**. Las investigaciones más prometedoras tienen lugar en potenciales vacunas contra el melanoma y el linfoma, aunque los estudios están en fase I.

Uno de los retos más importante en el desarrollo de vacunas contra el cáncer consiste en identificar los antígenos e inmunizar contra ellos. Esta técnica resulta engañosa, porque las células cancerosas se encuentran en el interior del propio organismo y carecen de antigenicidad. Por tanto, lo que hay que conseguir es que esta vacuna “*engañe*” al propio organismo para que crea que los antígenos son externos y pueda combatirlos con una respuesta inmunológica. Se está investigando, además, la posibilidad de introducir moléculas secundarias necesarias para activar las **células T**. Estas moléculas pueden ser introducidas dentro de las células cancerígenas en el laboratorio y posteriormente reintroducirse en el paciente.

Los investigadores de linfomas están haciendo importantes progresos en el desarrollo de vacunas individualizadas para pacientes que sufren cánceres hematológicos. Las primeras pruebas clínicas han demostrado que las vacunas contra el linfoma reducen o eliminan las células cancerosas que permanecen en el organismo después de la quimioterapia.

En un estudio realizado contra una molécula receptora derivada de las propias células cancerígenas de pacientes se ha demostrado que las **células T** pueden destruir el propio tumor en ensayos “*in vivo*”.

El **Dr. Rosenberg** ha encontrado un componente de una proteína que el sistema inmunológico reconoce en las células cancerígenas. Esta proteína combinada con **interleucina 2 (IL 2)** fue aplicada a pacientes con melanoma avanzado observándose en una mayoría de ellos una respuesta inmunológica positiva, que consistió en una reducción de los tumores. Se trata en realidad más bien de un tratamiento curativo que preventivo.

El **científico Maurizio Zanetti**, de la *Universidad de California en San Diego*, ha comunicado el uso experimental de una **vacuna de ADN** en diez pacientes con cáncer de páncreas y próstata. Se trata de una nueva estrategia más rápida, limpia y directa. Este investigador trabaja con una cantidad muy pequeña de **ADN**, de 30 a 60 nucleótidos, que se inserta en determinadas células inmunitarias para activar la respuesta de los **linfocitos T**. Esta vacuna experimental está siendo desarrollada para su administración por vía nasal.

- **Agentes anti-angiogénesis.** De hecho, el crecimiento de un tumor depende de la formación de nuevos vasos sanguíneos. Estudios realizados en humanos han mostrado que una inhibición del proceso de angiogénesis a través de unos determinados agentes priva al carcinoma de la sangre que necesita para crecer y extenderse en el organismo. Dos proteínas, la *endostatina* y *angiostatina*, tienen la capacidad de inhibir la formación de los vasos sanguíneos que el tumor “*fabrica*” para alimentarse. Esta práctica ha motivado impresionantes tasas de curación en ratones con diversos tipos de tumores, aunque los efectos en seres humanos aún no son conocidos.

- **Trasplantes.** El trasplante *autólogo* o *alógeno de médula ósea* habitualmente se utiliza en cáncer asociado con el sistema linfático, en aquellos enfermos con muy mal pronóstico.

En el caso del *trasplante autólogo*, para que sea satisfactorio, tiene que estar libre de células tumorales, lo que se consigue “*purgándolo*” a veces con drogas. Este proceso de limpieza puede motivar una lenta recuperación de la función medular después del trasplante.

El *trasplante alogénico* conlleva una serie de riesgos, ya que a pesar de todos los esfuerzos realizados para que donante y receptor sean compatibles, siempre puede existir rechazo y presentarse enfermedad de injerto contra el huésped, que en algunos casos puede resultar fatal.

- **La Telomerasa.** Los científicos saben desde hace tiempo que cada vez que una célula se divide, unos fragmentos de ADN llamados *telómeros* se acortan en los extremos de los cromosomas. Este proceso puede llegar a un punto en el que estas capas vitales se hacen tan pequeñas que el cromosoma no se puede duplicar correctamente y la célula muere. Muchas células cancerosas sortean este fenómeno porque tienen una versión activa de una enzima llamada *telomerasa*, que alarga los *telómeros* y permite a las células dividirse para siempre. Añadiendo a fibroblastos copias activas del gen que codifica la *telomerasa* convierten estas células en inmortales.

Los investigadores del cáncer intentan descubrir cómo cortar la producción de *telomerasa* en las células cancerígenas. Experimentos anteriores han manifestado que la *telomerasa* está también controlada por otro gen localizado en el cromosoma 3, donde actuaría como un interruptor de control en la producción de *telomerasa*.

- **Biosíntesis combinatoria.** A esta metodología se le está dedicando gran atención al ser una alternativa complementaria a los programas de búsqueda de nuevos compuestos antitumorales.

La *biosíntesis combinatoria* es un tipo de estrategia que genera nuevos compuestos bioactivos a través de la combinación de genes implicados en distintas rutas de biosíntesis de antitumorales.

Este tipo de estrategia consta de tres fases independientes entre sí y consecutivas. En primer lugar, a partir de bacterias productoras de agentes antitumorales conocidos, aislamos e identificamos los genes que participan en dicha biosíntesis. Mediante manipulación genética se introducen algunos de estos genes en otras bacterias productoras de agentes antitumorales relacionados estructuralmente. La coexistencia en esta bacteria o clon de genes que participan en la biosíntesis de dos compuestos diferentes hace que se puedan producir nuevos compuestos híbridos con propiedades estructurales de ambas moléculas parentales y que puedan tener mayor actividad.

En la segunda fase se procede al aislamiento y purificación de los nuevos compuestos híbridos para determinar su estructura química y analizar el tipo de cambios que se han ocasionado en ellos.

En la tercera y última fase, se realizan ensayos a nivel de laboratorio para determinar la potencialidad de los nuevos compuestos como inhibidores del crecimiento y multiplicación de distintos tipos de células tumorales. Si en estos se obtienen resultados prometedores, se procede a la producción del compuesto en cantidades que permitan llevar a cabo ensayos en animales de experimentación, como uno de los pasos previos a la potencial aplicación clínica.

- **Mecanismos tumorsupresores.**

1.- El gen p53. Este gen, descubierto por el escocés **Roland Wolf**, si está sano y hace bien su trabajo, mantiene la funcionalidad de la célula con absoluta normalidad. Pero si falla, está dañado o no es funcional por la acción de otras moléculas, la célula se encamina hacia el cáncer.

El **Dr. Bert Vogelstein**, del *Instituto Médico Howard Hughes* y del *Centro Oncológico John Hopkins*, descubrió en 1989, que aproximadamente el 80% de los cánceres de colon son consecuencia de cambios en el **gen p53**. Diferentes mutaciones del **p53** están asociadas a más de 50 tipos de cánceres, tanto sólidos como hematológicos.

En 1979, **David Lane**, de la *Universidad de Dundee (Escocia)* y **Arnold Levine**, de la *Universidad de Princeton*, descubrieron, independientemente, la proteína expresada por el **gen p53**, y tres años más tarde, un equipo de biólogos aisló el **gen**. Pero en estos momentos se pensó que dicho gen era causante de cáncer, en lugar de supresor. La duda se despejó en 1989 cuando **Levine** y **Vogelstein**, descubren, separadamente, que el **gen p53** era un asesino de tumores.

El **gen p53** obtuvo el premio de la *Academia Mundial de Ciencias* y el año 1993 la revista "*Science*" le reconoció como "*molécula del año*". **Arnold Levine** dice: "*Lo que más me gusta del p53 es que predice las formas de tratar el cáncer*".

Para conseguir el pretendido efecto terapéutico hay que introducir desde el exterior, mediante un adenovirus como vector, el **gen p53 normal**, para que su actividad reemplace a la proteína anómala y recupere su funcionamiento fisiológico de reparación o apoptosis. El virus entero llegaría hasta la propia célula tumoral y, una vez dentro, la colonizaría e introduciendo su genoma

comenzaría a replicarse. Los posibles daños causados por el virus son banales, por su escasa patogenicidad. El **p53** se obtiene de células normales, desconociéndose aun la duración de su efecto.

Muchos procesos tumorales dependen de un funcionamiento anormal del **gen p53**, ya que al intentar frenar su función se puede paralizar la enfermedad. El **gen** normal actúa como un director celular de control de daños. En resumen, podemos decir que la función principal del **gen p53** consiste precisamente en detectar el daño en el **ADN** y mantener en suspenso el ciclo celular mientras las enzimas lo reparan. Si el daño es irreparable, el **p53** obliga a la célula a su autodestrucción.

Ocasionalmente, el **gen p53** puede actuar activando el mecanismo de suicidio celular. Es decir, el gen “bueno” se nos ha vuelto dañino. Y los fallos de este gen son responsables, directa o indirectamente, de aproximadamente un 60% de los cánceres humanos: mama, pulmón, hígado, próstata, piel, vejiga, cérvix y colon. Esto ocurre, sencillamente, cuando el **gen p53** sufre una mutación y la proteína que produce no es capaz de suprimir tumores.

2.- El gen p73. Un equipo de investigadores de la *Universidad norteamericana de Harvard*, junto con científicos franceses, han descubierto un nuevo gen de gran semejanza con el anterior, el **gen p73**. Se trata de un **gen tumorsupresor** que abre una nueva puerta en el tratamiento contra el cáncer, por inhibir la proliferación celular. Este gen codifica una proteína con una secuencia de aminoácidos similar al **p53**. Se trata de una nueva pieza que se añade al puzle del cáncer.

El hallazgo de este nuevo gen tuvo lugar cuando el genetista **Daniel Caput** y un grupo de expertos, de *Sanofi Recherche* en *Francia*, buscaban receptores celulares del sistema inmune y se encontraron con un gen, que les sorprendió cuando observaron que su secuencia le recordaba a la del **gen p53**, cuya función consistía en impedir la división celular cuando el **ADN** había sido dañado. Estos investigadores contactaron con **Frank McKeon**, especialista en expresión génica de *Harvard*, quien reveló el sorprendente paralelismo entre ambos genes.

El **p73** está situado en una de las zonas más interesantes referente a **genes tumorsupresores** y se ha comprobado que actúa en muchas ocasiones de una forma muy similar a la de la **p53**, al activar la expresión de los genes diana que reaccionan con este y al inhibir del mismo modo el crecimiento celular. El **p73** se localiza en el brazo corto del **cromosoma 1** y se ha detectado en una región que a veces está deletada en los neuroblastomas.

3.- El gen protector FHIT. Un grupo de científicos de la *Universidad Thomas Jefferson* de *Filadelfia* utilizando técnicas combinadas de genética, bioquímica y cristalografía, han obtenido información sobre la función de la **proteína tumorsupresora Fhit**, el producto del **gen FHIT**. Dicho gen se inactiva en el desarrollo temprano del cáncer, en especial en el pulmonar. Conocer su funcionalidad podría ayudar a desarrollar nuevas fórmulas para el tratamiento del cáncer.

Este equipo ha observado como dicha proteína enzimática suprime la formación del tumor al unirse y adherirse a una serie de nucleótidos inusuales en la célula, denominados **ApppA**. Estos son una señal que utiliza la célula para el control de la proliferación o del suicidio celular. Uno de estos es utilizado por la célula para controlar su crecimiento o para programar su muerte o apoptosis.

4.- El gen NOEY2. Este nuevo gen tumorsupresor que se asocia con los carcinomas de mama y de ovario fue encontrado por un equipo investigador del *Anderson Cancer Center* de *Houston*, Texas. Éste regula el ciclo de crecimiento celular y pertenece a la superfamilia genética **ras**, un amplio grupo de proteínas que funcionan como interruptores moleculares en la comunicación intracelular. El gen se encuentra localizado en las células normales, pero no en las células cancerígenas de mama o de ovario. Los investigadores consideran que su reposición artificial en estas células frenaría su crecimiento.

- **Oligonucleótidos antisentido.** Hasta ahora la mayoría de los fármacos han actuado sobre el producto final, la proteína. Actualmente, en terapia génica se están llevando a cabo estudios basados en avances farmacológicos con *oligonucleótidos antisentido*.

La síntesis de una cadena polipeptídica puede resumirse en dos pasos: la **transcripción** del mensaje desde el **ADN nuclear** al **ARNm** citoplasmático y la **traducción** en el ribosoma por el **ARNt** que ordena secuencialmente los aminoácidos de acuerdo con la lectura del mensaje

codificado en el **ARNm**. De las dos bandas que conforman el **ADN** sólo se transcribe una, que se denomina **banda sentido** y el **ARNm** transcrito se llama **ARN sentido**.

Pero si se conoce la secuencia nucleotídica que codifica una proteína se puede fabricar la molécula que interaccione con el **ARNm** correspondiente, bloqueando la **traducción**. En este caso se impide la síntesis de la proteína, y si no existe ésta no hay función.

Es posible sintetizar **oligonucleótidos antisentido** que se unan al **ARNm** y bloqueen su lectura. Estos pueden bloquear productos génicos somáticos codificados por nuestros propios genes o por los de diferentes patógenos.

Los problemas que presentan su utilización, que en principio son bien tolerados, radican en que son destruidos por las **ADNasas**, presentes en todo el organismo; la dificultad de dirigirlos a las células diana, y la de ser administrados parenteralmente.

Finalmente, podemos decir que la terapia anticancerígena nos viene sorprendiendo todos los días con nuevos avances y que una serie de patologías, que en tiempos pretéritos fueron causa de una gran mortalidad, actualmente están siendo vencidas con nuevos biofármacos de probada eficacia.