

Inmunofluorescencia terapéutica en clínica oncológica

JOSÉ VICENTE OVEJERO-SOLÁ*

Consultorio Güemes, Sanatorio El Carmen, Ciudad de Salta, República Argentina

RESUMEN

La inmunoterapia representa una alternativa terapéutica atractiva en oncología clínica por su baja toxicidad y amplios fundamentos teóricos. Se han descrito diversas vías metabólicas de escape al sistema inmunológico por parte de las células tumorales. La inmunoterapia puede ser aplicada en forma pasiva o activa, ya se administren anticuerpos o células de donantes o inmunoestimulantes. El tratamiento propuesto consiste en estimular células inmunocompetentes con timomodulina y tratar de alterar la identidad inmunológica del tumor administrando fluoresceína como hapteno selectivo sobre tejidos tumorales con receptores positivos a folatos.

Palabras clave: Células inmunocompetentes. Timomodulina. Hapteno selectivo.

ABSTRACT

Immunotherapy represents a very attractive therapeutic alternative in the daily clinical oncology practice, due to its low toxicity and well-documented theoretical foundations. Multiple metabolic pathways have been described by which the tumor cells escape to the control of the immune system. Immunotherapy can be applied actively or passively, whether with donor antibodies or with immune stimulants. The proposed treatment is to stimulate the proliferation of T lymphocytes with thymomodulin while trying to alter the immunological identity of the tumor with fluorescein administered as a selective hapten on positive folate receptor tumor tissues. (J CANCEROL. 2018;5:93-6)

Corresponding author: José Vicente Ovejero-Solá, joseovejero1@gmail.com

Key words: Immunocompetent cells. Thymomodulin. Selective hapten.

Correspondencia:

*José Vicente Ovejero-Solá

E-mail: joseovejero1@gmail.com

Recibido para su publicación: 20-08-2018

Aceptado para su publicación: 28-08-2018

INTRODUCCIÓN

A escala molecular se han descrito vías metabólicas muy específicas «de escape» al sistema inmunológico por parte de las células neoplásicas, lo que les proporciona una ventaja de supervivencia y proliferación dentro del organismo que las hospeda.

La inmunoterapia puede aplicarse dos formas: en la inmunoterapia pasiva se administran al paciente células inmunocompetentes o gammaglobulinas de donantes, mientras que en la inmunoterapia activa se administran inmunomoduladores exógenos, es decir, sustancias capaces de inducir la propia respuesta inmunitaria del paciente, o se activan sus propias células *ex vivo* con inmunocomplejos y antígenos tumorales para luego retransfundirlas.

Un hapteno es una sustancia de peso molecular menor a 10.000 daltons que por sí sola no puede desencadenar una respuesta inmunológica, pero que unida a proteínas tisulares o humorales conforma un inmunocomplejo altamente reactivo.

La fluoresceína es un hapteno que, unido a globulinas, ha demostrado la capacidad de inducir una fuerte respuesta inmunocompetente selectiva contra tejidos neoplásicos. Se la utiliza en medicina asistencial, en Argentina está autorizada por la ANMAT (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología médica) para diagnóstico oftalmológico, por vía endovenosa y tópica sobre la córnea; también por vía endovenosa como marcador de tejidos neoplásicos en oncología quirúrgica durante cirugías de resección de cáncer mamario, tumores cerebrales, de cabeza y cuello y ováricos, y en la detección de lesiones preneoplásicas y neoplásicas mediante colposcopia de cuello uterino. La fluoresceína está en el Listado de Fármacos Esenciales de la Organización Mundial de la Salud, décimonovena edición.

La timomodulina es un extracto de timo bovino, compuesto por polipéptidos ácidos, de peso molecular menor a 10.000 daltons, con acción trófica sobre la médula ósea, bazo y ganglios linfáticos, que estimula la actividad mitótica y la maduración de linfocitos T. Es un fármaco autorizado como inmunomodulador por la ANMAT en forma de ampollas bebibles de uso cotidiano como restaurador del sistema inmunológico luego de quimioterapia y radioterapia ablativas.

HIPÓTESIS

Administrar fluoresceína por vía sistémica a un paciente portador de una enfermedad neoplásica para que se incorpore al tejido tumoral como hapteno y lo transforme inmunohistoquímicamente e induzca una respuesta inmunológica antineoplásica, habiendo estimulado previamente la proliferación de linfocitos T con timomodulina.

ANTECEDENTES

En 2008, Osamu Shimomura, Martin Chalfie y Roger Tsien son galardonados con el Premio Nobel de Química por sus investigaciones con proteínas fluorescentes con capacidad de fusionarse a tejidos *in vivo*, manteniendo a las células intactas y sin alterar la fisiología, en animales de experimentación. Estas proteínas quiméricas fluorescentes permiten la detección de tejidos embrionarios y tumorales. Desde entonces, el uso de fluorescencia diagnóstica para obtener imágenes del desarrollo y progresión tumoral en modelos experimentales se ha extendido ampliamente.

La fluoresceína es una xantina, sintetizada por Adolf von Baeyer en 1.871; su sal sódica soluble en agua es conocida como uranina (Fig. 1).

La fluoresceína se utiliza en medicina diagnóstica unida a anticuerpos, como inmunomarcación de muestras de biopsias en estudios de anatomía

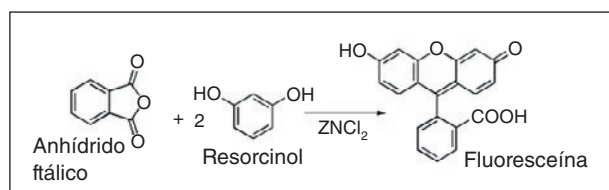


Figura 1. Síntesis de fluoresceína.

patológica y en estudios de biología molecular, por sus propiedades fluorescentes (responde a la radiación electromagnética de longitudes de onda entre 465 y 490 nm emitiendo luz fluorescente de 520 a 530 nm, luz visible).

La fluoresceína sódica ya fue utilizada para el diagnóstico clínico de tumores en pacientes por Cramer y Brilmayer en 1951, quienes aplicando la molécula por vía endovenosa observaron la mayor distribución del fluorescente en tejidos neoplásicos con respecto a los normales .

A escala molecular, la fluoresceína se fija a inmunoglobulinas, lectinas, polisacáridos de membrana y ácidos nucleicos. La molécula de fluoresceína interactúa específicamente con el receptor para los folatos; este receptor es el glicosil fosfatidilinositol, una molécula de membrana que se sobreexpresa en el 95% de las células tumorales humanas, y está siendo estudiado como posible blanco en terapias antineoplásicas dirigidas (terapias blanco, *targeted therapies* de la bibliografía en inglés). En la Cancer Cell Line Encyclopaedia se halla el listado de tumores humanos con mayor sobreexpresión de receptor de folato alfa (FOLR1 mRNA *expression levels in cell line panels*): cáncer de ovarios, mama, pleura, pulmón, cuello uterino, endometrio, riñón, vejiga y cerebro.

Estudios de biología molecular demostraron la afinidad entre la fluoresceína y el receptor de folatos en muestras de tumores humanos¹. En modelos animales se han observado respuestas inmunitarias ante un hapteno de fluoresceína conjugada con albúmina sérica bovina². La fluoresceína inyectada se fija selectivamente en tejidos de

cáncer pancreático humano injertado en ratones atímicos³, como demostración de la selectividad de la molécula sobre las células neoplásicas receptor folato positivas con respecto a células sanas carentes del receptor.

Resulta teóricamente posible que el conjugado globulina/fluoresceína actúe como hapteno y estimule la producción de anticuerpos. Estudios con células tumorales demostraron que las células marcadas con fluoresceína resultaban lisadas por citotoxicidad mediada por anticuerpos y por fagocitosis⁴.

Hace un siglo, Copeman, et al. (1931), en una era prequimioterapia y preantibiótica, administraron fluoresceína por vía endovenosa y oral en un intento terapéutico, como adyuvante a la radioterapia en pacientes oncológicos, y describieron sus observaciones⁵.

Actualmente (junio de 2018), el Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos patrocina tres ensayos clínicos con Fluoresceína endovenosa como marcador diagnóstico de tejidos neoplásicos durante intervenciones quirúrgicas en pacientes oncológicos⁶. Utilizan la frase "*Theranostics use of Fluorescein*", ¿un neologismo entre *therapeutic/diagnosis*? y confirman la afinidad selectiva del pigmento fluorescente por los tejidos neoplásicos con respecto a los sanos, lo que facilita la detección y resección tumoral durante el acto quirúrgico.

No encuentro antecedentes del uso terapéutico por vía sistémica de fluoresceína como un hapteno inmunosensibilizador selectivo de tejidos tumorales administrado junto a un inmunostimulante en pacientes oncológicos con el fin de desencadenar una respuesta autoinmune antineoplásica. Pero sí ha sido descrita la propuesta terapéutica: Philip Low y Christopher Leamon (Universidad Purdue, EE.UU.) proponen un método de inmunoterapia basado en «forzar al propio sistema inmunológico a combatir el cáncer mediante la fluoresceína como hapteno»⁷.

El tratamiento propuesto es un intento de alterar la identidad inmunológica del tejido tumoral, marcándolo con fluoresceína, para que resulte inmunógeno a las células inmunocompetentes previamente estimuladas con timomodulina: inmunofluorescencia terapéutica.

La fluoresceína se administra por vía oral, sublingual y endovenosa en dosis de 15 a 20 mg/kg. La fluoresceína no es metabolizada en el organismo y se elimina por vía renal.

PROCEDIMIENTO

Pacientes portadores de neoplasias sólidas avanzadas y recurrentes tras terapias estándares fueron informados sobre el tratamiento y se les entregó documentación escrita acerca del uso de los dos fármacos con el objetivo de estimular la producción de células inmunocompetentes y sensibilizarlas contra su afección tumoral. Ambos fármacos son de prescripción cotidiana en medicina asistencial, se expenden en farmacias y cuentan con la cobertura de las obras sociales.

De acuerdo a los prospectos de ambos productos, pueden ocurrir reacciones alérgicas y trastornos gastrointestinales como efectos adversos.

Se les indicó iniciar tratamiento según:

– Día 1.º a 10.º, timomodulina, 60 mg/día por vía oral en una sola toma.

– Día 11.º en adelante, fluoresceína en solución al 10%, 1 cm³ por vía oral o sublingual cada 8 h durante 20 días. En pacientes incapacitados para recibir medicación oral: fluoresceína sódica al 10%, 5 cm³ en 500 cm³ de solución fisiológica en goteo endovenoso cada 7 días.

– Controles hematológicos y por imagen cada 30 días para evaluar la tolerancia y la respuesta al tratamiento.

CONCLUSIONES

La administración secuencial de timomodulina y fluoresceína como inmunoterapia antineoplásica es un tratamiento fundamentado; son fármacos autorizados, fáciles de administrar, de costo moderado y muy baja toxicidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cheung A, Bax HJ, Josephs DH, Ilieva KM, Pellizzari G, Opzoomer J, et al. Targeting folate receptor alpha for cancer treatment. *Oncotarget*. 2016;7(32):52553-74.
2. Nakamura K, Mimura Y, Takeo K. Immune response to a hapten of fluorescein isotiocyanate in a single mouse analyzed by two-dimensional affinity electrophoresis. *Electrophoresis*. 1993;14(1-2):81-7.
3. Won Y, Park B, Kim I, Lee S. Fluorescence life time measurement with confocal endomicroscopy for direct analysis of tissue biochemistry in vivo. *Heliyon*. 2016;2(8):e00139.
4. Lu Y, Sega E, Low PS. Folate receptor targeted immunotherapy: induction of humoral and cellular immunity against hapten-decorated cancer cells. *Int J Cancer*. 2005;116(5):710-9.
5. Monckton Copeman S. Activated (irradiated) fluorescein in the treatment of cancer. *Br Med J*. 1929;2(3579):233-36, 242-2.
6. National Cancer Institute (USA) Clinical trials, Fluorescein Sodium 6 / 2018
7. Researchers developing technology to outsmart metastasizing cancers [Internet]. *Purdue News*; 19 de junio de 2002. Disponible en: <https://www.purdue.edu/uns/html4ever/020619.Low.Endocyte.html>