

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Biopsia virtual: ver el cáncer invisible

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2018.01.1

Alberto Jiménez Schuhmacher

Jefe grupo de Oncología Molecular. Instituto de Investigación Sanitaria Aragón

Biografía Resumen

Licenciado en Bioquímica (Universidad de Zaragoza, 1998-2003). Realizó su doctorado en el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO) bajo la dirección de Mariano Barbacid (2003-2009) donde desarrolló y caracterizó modelos murinos para el estudio de los oncogenes Ras en cáncer y enfermedades raras. Realizó una estancia postdoctoral con Johanna Joyce (2009-2013) en el Memorial Sloan-Kettering Cancer Center de Nueva York donde estudió el microentorno tumoral del glioblastoma e identificó un tratamiento para re-educar los macrófagos actualmente en ensayos clínicos. Retornó al grupo de Tumores Cerebrales del CNIO, donde trabajó en la identificación de genes moduladores de respuesta a quimioterapia en tumores cerebrales. A través del consorcio M+Visión se especializó en imagen biomédica. Desde el año 2017 dirige el Grupo de Oncología Molecular del Instituto de Investigación Sanitaria Aragón donde desarrolla nuevas herramientas de imagen biomédica, bautizadas como biopsias virtuales, y modela in vitro las cardiopatías de RASopatías. Ha recibido numerosas ayudas, premios y becas. Comprometido con la divulgación. Miembro de Honor de numerosas asociaciones e Hijo Predilecto de Zaragoza por sus contribuciones científicas y valores humanos.

La sensibilidad de las nuevas técnicas de diagnóstico por imagen, combinadas con la especificidad de anticuerpos dirigidos frente a dianas tumorales concretas, nos permiten el desarrollo de herramientas de imagen biomédica equivalentes a hacer una inmunohistoquímica in vivo de todo un tumor sin tocarlo.

Summary

The sensitivity of new diagnostic imaging techniques, combined with the specificity of antibodies directed against specific tumor targets, allow us to develop biomedical imaging tools equivalent to in vivo immunohistochemistry of an entire tumor without even touching it.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

El glioblastoma es el tumor cerebral más frecuente y letal. Ante la sospecha de que un paciente pueda padecerlo, se realiza una prueba de imagen no invasiva. La imagen biomédica consiste en fotografías que ayudan a los médicos a tomar decisiones. Para diagnosticar un glioblastoma se usa principalmente la resonancia magnética. Esta técnica proporciona una información anatómica excepcional, pero no nos da más información, solo un mapa de la anatomía tumoral (1). ¿Cuál es el grado o malignidad del tumor? ¿Qué tratamiento puede funcionar mejor? A veces la fotografía que nos proporciona la resonancia puede confundir un tumor con otros tipos de lesiones, con inflamación, edemas, cicatrizaciones...

Necesitamos mejores imágenes y que éstas nos den más información. Existen otras técnicas de imagen mucho más sensibles como la Tomografía por Emisión de Positrones, el famoso PET. Es la técnica más sensible y además, nos puede aportar información de la biología del tumor. Si marcamos una molécula con un átomo que emita positrones, al liberarse éstos se aniquilan con los electrones cercanos, produciendo 2 fotones emitidos en la misma dirección, pero con sentidos opuestos. Con un escáner, que consiste en un anillo de detectores y un procesamiento informático, obtenemos una imagen tridimensional espectacular.

Si bien esta técnica tiene un gran potencial, es una técnica que está infrautilizada. Más del 90% de las ocasiones se usa glucosa marcada con positrones (Fluorodesoxiglucosa). Como en general las células tumorales consumen más azúcar que las sanas, el PET nos permite encontrar, por ejemplo, tumores y pequeñas metástasis. Es muy útil para muchos tumores. ¡Más del 30% de los pacientes con cáncer cambian de régimen de tratamiento tras un escáner PET! (2) Pero en el caso de los tumores cerebrales la imagen PET es poco eficaz porque el cerebro consume mucho azúcar (3). Necesitamos mejores imágenes para poder sacar la máxima información de los tumores cerebrales.

El diagnóstico actual del glioblastoma precisa de una biopsia intracraneal o del análisis de una muestra del tumor tras la cirugía. Hoy en día sabemos, gracias a los avances genómicos, que el tumor es tan heterogéneo que muchas veces no resulta eficaz una única biopsia y que éstas, además, pueden favorecer recidivas (4). Una biopsia consiste en esencia en coger un trozo de tejido y analizarlo mediante análisis histológicos, inmunohistoquímicos y moleculares. En nuestro laboratorio queremos hacer una especie de biopsia virtual, analizar todo el tumor dentro del paciente sin tocarlo. La idea consiste en hacer un equivalente de una inmunohistoquímica con el PET. Para ello estamos marcando anticuerpos dirigidos frente a

SEBBM
SEBBM

Sociedad Española
de Bioquímica y
Biología Molecular

biomarcadores tumorales con isótopos emisores de positrones con el fin de inyectarlos en pacientes y buscarlos con un escáner PET. Esta técnica se conoce como inmuno-PET (5).

Para realizar un buen inmuno-PET debemos tener en cuenta tres elementos. El primero es la diana. Idealmente debe expresarse en el tumor pero no en tejido sano y debe localizarse en la membrana celular para ser accesible. El segundo elemento es disponer de un buen anticuerpo, muy específico y que reconozca el epítipo intacto. Podemos alterarlo mediante ingeniería de proteínas para que su farmacocinética y biodistribución mejore. Finalmente, el isótopo PET, los hay con distinta vida media y sistema de producción.

Para elegir la diana nos hemos convertido al *dataísmo* y buscamos biomarcadores en bases de datos de cientos de pacientes mediante análisis informáticos. Hemos encontrado unos candidatos muy abundantes en las células tumorales, en su membrana y que prácticamente no se expresan en tejido sano. Su expresión se correlaciona con una peor respuesta a la quimioterapia.

Para validar estas dianas estamos generando unos anticuerpos monoclonales frente a ellas. Usamos agentes quelantes como la deferoxamina para unirles isótopos con una vida media larga, como el ^{89}Zr (6). Como prueba de concepto inyectamos estas "sondas" en modelos xenoinjertados con células tumorales que expresan la diana y células cuya diana ha sido eliminada por CRISPR/Cas9. Los resultados preliminares son prometedores (6).

Los anticuerpos completos tienen una vida media larga en sangre, eso es bueno para usarlos como inmunoterapia. Pero no debemos irradiar a un paciente durante días para hacerle una foto del tumor. Para usarlo en pacientes mejoraremos la farmacocinética y biodistribución del anticuerpo para que llegue mejor al cerebro (7). Mediante ingeniería de proteínas jugaremos con sus regiones hipervariables, las responsables de unirse al antígeno, para hacer minianticuerpos. Además, emplearemos dromedarios, llamas y tiburones porque de manera natural producen unos nanoanticuerpos que pasan la barrera hematoencefálica y se eliminan rápidamente por vía renal.

Otra innovación que estamos persiguiendo es la fuente de positrones (8,9). A nuestros anticuerpos les uniremos radioisótopos que, en lugar de proceder de átomos generados en un ciclotrón, que requiere una instalación del

tamaño de una cafetería grande, mucho personal y un elevado coste, serán producidos en un generador de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ tamaño de una Nespresso, que cuesta unos pocos miles de euros y podrá ponerse al lado de cada escáner PET. Esto nos permitirá abaratar los costes y favorecer su accesibilidad a todo el mundo.

En el laboratorio queremos desarrollar muchos de estos anticuerpos, muchas cápsulas de esta *cafetera*-PET. Soñamos con tener un portfolio de cápsulas-PET que nos permita interrogar al tumor sin tocarlo. Si eres positivo para el café *Roma* y el *Ristretto*, mejor dar radioterapia y, si sale bien el *Arpeggio*, se le trata con inmunoterapia directamente. Adicionalmente, pretendemos añadir otra funcionalidad a los anticuerpos para que puedan llevar tratamientos hacia el tumor o puedan detectarse con más aparatos como la resonancia magnética.

Vivimos ante la promesa-realidad de la biopsia líquida. Con un análisis de sangre podemos ya analizar el ADN y células liberados por un tumor. Podremos detectar un perfil de mutaciones, analizar el inventario de alteraciones del naufragio genómico de un cáncer y determinar si una persona puede tener un tumor... ¡Pero habrá que encontrarlo! Algunas pistas están en el ADN, como el tipo de mutaciones o sus patrones de metilación. Tal vez la biopsia virtual pueda ayudarnos a encontrar el cáncer invisible.

Referencias:

1. Ahmed R, et al. Malignant gliomas: current perspectives in diagnosis, treatment, and early response assessment using advanced quantitative imaging methods. *Cancer Manag Res.* 2014;6:149-170.
2. Hillner BE, et al. Impact of 18F-FDG PET used after initial treatment of cancer: comparison of the National Oncologic PET Registry 2006 and 2009 cohorts. *J Nucl Med.* 2012;53(5):831-837.
3. la Fougère C, et al. Molecular imaging of gliomas with PET: opportunities and limitations. *Neuro Oncol.* 2011;13:806-819.
4. Parker NR, et al. Molecular heterogeneity in glioblastoma: potential clinical implications. *Front Oncol.* 2015;5:55.
5. Knowles SM, Wu AM. Advances in Immuno-positron emission tomography: Antibodies for molecular imaging in oncology. *J Clin Oncol.* 2012;30:3884-3892.
6. de Lucas AG, Schuhmacher AJ, et al. Targeting MT1-MMP as an Immuno-PET-Based Strategy for Imaging Gliomas. *PLoS One.* 2016;11(7):e0158634.
7. Freise AC & Wu AM. *In vivo* imaging with antibodies and engineered fragments. *Mol Immunol.* 2015;67(2 Pt A):142-152.
8. Romero E & Morcillo MA. Inorganic oxides with potential application in the preparation of a $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator system. *Appl Radiat Isot.* 2017;119:28-35.
9. Romero E, et al. Preparation of ^{68}Ga -labelled DOTA-peptides using a manual labelling approach for small-animal PET imaging. *Appl Radiat Isot.* 2016;107:113-120.

Figura. Pasos claves en el desarrollo de sondas para biopsias virtuales. (Arriba) Para realizar una prueba de concepto generamos anticuerpos monoclonales (mAb) muy específicos frente a los biomarcadores determinados mediante análisis bioinformáticos. La funcionalidad del anticuerpo y la diana es validada en muestras de pacientes y cultivos celulares. Posteriormente, para su uso en inmuno-PET los mAb son conjugados con un agente quelante (por ejemplo deferoxamina, DFO) y marcados con ^{89}Zr ($t_{1/2}=78.4\text{h}$). El conjugado mAb-DFO- ^{89}Zr es inyectado en modelos xenoinjertados y se adquieren imágenes con un escáner PET a diferentes tiempos para determinar la cinética.

(Centro) Una vez validada la diana y el anticuerpo, miniaturizamos el mAb para mejorar su farmacocinética y biodistribución. Esta fase se realiza mediante ingeniería de proteínas combinando distintos dominios de las regiones variables de los anticuerpos (dominios VH y VL). Estos derivados de anticuerpos se eliminan más rápidamente de la circulación y permiten una adquisición más temprana. Favorecen también el uso de radioisótopos producidos en un generador de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ (^{68}Ga $t_{1/2}=1.1\text{h}$). Este generador es de pequeño tamaño, como el de una cafetera Nespresso.

(Abajo) En el laboratorio queremos desarrollar muchos de estos anticuerpos, un portfolio de cápsulas-PET para esta *cafetera* PET que nos permitan interrogar al tumor sin tocarlo. La fotografía muestra una imagen de una biopsia virtual con una sonda mAb-DFO- ^{89}Zr frente a una diana localizada en la superficie de células de un glioblastoma humano xenoinjertado en un ratón. Reconstrucción en 3D de un inmuno-PET (color). Para disponer de localización anatómica más precisa se combina con una imagen obtenida por tomografía axial computerizada

