

Hipoxia: una diana terapéutica

La terapia dirigida hacia nuevas dianas terapéuticas específicas de las células malignas constituye una de las aproximaciones más prometedoras en el tratamiento de las neoplasias¹. Para el descubrimiento de nuevos fármacos que actúen sobre dichas dianas pueden considerarse tres procedimientos o niveles: el subcelular, en las que se utiliza una molécula determinada implicada en la proliferación, como el ADN, una quinasa, etc.; el celular, el más tradicional, que implica la valoración de la actividad sobre cultivos de células tumorales, preferible y habitualmente humanas, donde se observa de una forma empírica el interés de una sustancia como frenadora de la replicación y, finalmente, la fisiología del propio tumor, que al interferirla se podría detener su crecimiento. Este último caso sería el de la inhibición de la angiogénesis tumoral y el de la inhibición de las células hipóxicas. Cada una de las tres tiene sus *pros* y *contras*, por lo que son, generalmente complementarias, aunque siempre serán los ensayos clínicos los que dirán la última palabra sobre la aplicabilidad de la nueva sustancia. En este editorial se va a considerar solamente la última de las mencionadas.

La hipoxia es una anomalía característica de los tumores, ya que no se da en los tejidos normales²; constituye una zona relativamente bien definida. Alrededor de un capilar en el interior del tumor pueden delimitarse tres espacios bien definidos. El más próximo, donde el oxígeno, glucosa, sales, etc. difunden con facilidad se denomina *zona óxica*, y en ella las células proliferan en abundancia; viene a tener unos 100 μm de diámetro. Entre los 100 y los 150 μm se encuentra la *zona hipóxica*, donde apenas existe proliferación celular. En esta zona llega poco oxígeno y las células se adaptan modificando algunas rutas metabólicas en las que predominan los procesos radicálicos, basados en la cesión de electrones solitarios, en vez de los iónicos que implican transferencia de pares electrónicos; adicionalmente, se produce un descenso del pH intra y extracelular, lo cual marca también una diferencia con el tejido sano que puede ser a su vez aprovechable desde el punto de vista terapéutico. Por encima de los 150 μm no llega el oxígeno, *zona anóxica*, y aparecen áreas necróticas, ya que las células no pueden sobrevivir en esas condiciones. Este fenómeno puede ser de carácter crónico o agudo, ya que a veces se producen paradas circulatorias, no suficientemente explicadas, que pueden llegar hasta los 20 minutos, en las que las células vecinas al capilar permanecen sin oxígeno. Otras veces, el crecimiento

tumoral va produciendo un estrangulamiento del vaso sanguíneo, con la consiguiente disminución del flujo.

Las células hipóxicas son resistentes a los quimioterápicos, no les llegan por problemas de difusión, y también a la radiación, ya que la ausencia de oxígeno, el más importante modificador de los efectos biológicos de la radiación ionizante³, no favorece la formación de radicales de vida media corta capaces de degradar el ADN celular, fragmentándolo, y disparando así la apoptosis. En conclusión, la hipoxia como diana terapéutica es una espada de doble filo, puesto que tiene un aspecto negativo en cuanto a las resistencias citadas y uno positivo basado en sus características diferenciales en relación con los tejidos sanos.

La primera aproximación utilizada para convertir las células hipóxicas en sensibles a la radiación fue, consecuentemente, el empleo de los oxigenomiméticos, denominados radiosensibilizantes, que eran fármacos capaces de dar lugar a radicales libres por la radiación y que se comprobó que deberían tener un potencial de reducción entre -350 y -500 mV para un electrón. No obstante, los resultados no fueron lo suficientemente satisfactorios, debido muy probablemente a los problemas de difusión.

Por otra parte, se consideró la posibilidad de que cuando un tratamiento acabase con las células sensibles, óxicas, su destrucción favorecería la llegada de sangre a las hipóxicas, por lo que las sensibilizaría. Sin embargo, los resultados no fueron los esperados. Durante la permanencia de las células eucariotas en condiciones bajas de oxígeno, el estrés oxidativo da lugar a mecanismos coordinados transcripcionales y traslacionales, con la aparición de genes que faciliten la supervivencia y la homeostasis del oxígeno, los conocidos como *factores inducidos por hipoxia* o HIF, que modifican la glucólisis y el transporte de glucosa y activan la angiogénesis y la eritropoiesis⁴. También inducen la expresión de nuevas proteínas relacionadas con la resistencia múltiple pleiotrópica, la MDR, a agentes a los que no han sido expuestas. Por si esto fuera poco, se ha encontrado que se produce una mutación de la p53 y una sobreexpresión de la Bcl-2, con la consiguiente inhibición de la apoptosis, lo cual podría explicar, al menos en parte, la resistencia de muchos tumores sólidos a las actuaciones terapéuticas^{5,6}. Una vez establecido el problema, la tendencia actual no es la de radiosensibilizar las células, sino eliminarlas directamente con sustancias específicas que actúen en su medio, a las que se conocen como bio-

rreducibles, que se activan intracelularmente, por lo que presentan dosis inhibitorias mucho menores para las células hipóxicas que para las óxicas e, incluso, las normales. Estos fármacos han de cumplir una serie de requisitos como son su afinidad por los electrones (oxidantes), capaces de alcanzar una concentración plasmática terapéutica y que presenten una vida media larga, de forma que puedan difundir a la zona diana, para lo cual deberán poseer un balance lipofilia-hidrofilia óptimo y que la actividad no dependa del ciclo celular.

El mecanismo de actuación de los fármacos biorreducibles consiste en la captación de un electrón para formar un intermedio de reacción, en los compuestos orgánicos el denominado anión-radical, caracterizado por la presencia, por una parte, de una carga negativa formal capaz de aceptar protones (zona aniónica) y, por otra, con un electrón solitario (zona radical). Esta última es capaz de arrancar átomos de hidrógeno, sin carga, del ADN, proteínas, etc. y así provocar la muerte celular. Una de las enzimas encargadas de la cesión del electrón al biorreducible es la diaforasa, una reductasa que forma parte del complejo del citocromo P-450, que en las células normales cede pares de electrones. Sin embargo, con el estrés oxidativo se produce su mutación cediendo sólo uno, para dar lugar al anión-radical.

Aunque se han estudiado complejos de coordinación de metales de transición, capaces de liberar grupos atómicos alquilantes al captar un electrón, sin duda los más importantes son los compuestos orgánicos. Éstos son de tres tipos: los nitroheterociclos, que son los que se corresponden con los antiguos radiosensibilizantes imidazólicos, como el metronidazol y sus homólogos, pero que se diferencian fundamentalmente en la posición del grupo nitro, por ejemplo, el misoni-

dazol. Las quinonas, cuyo ejemplo más demostrativo es la mitomicina C, descubierta por T. Hata en 1956, aunque no es muy selectiva debido, fundamentalmente, a la presencia de grupos alquilantes directos. Finalmente, los N-óxidos, entre los que señalaremos como más importante la tirapazamina, que está actualmente en el mercado, con un mecanismo de acción como biorreducible, prácticamente puro.

La tendencia actual en estos fármacos es la presencia de mecanismos híbridos, de forma que a la vez que forman el radical, liberen o den lugar a un agente alquilante como una mostaza nitrogenada, o que posean un grupo intercalante o que se una al *surco menor* del ADN, de forma que, topológicamente, se favorezca la ruptura de la macromolécula.

En conclusión, los agentes biorreducibles son de interés en la terapia antitumoral y al estar tan relacionados con la angiogénesis cabe esperar que se utilicen conjuntamente en los protocolos antineoplásicos.

Bibliografía

1. Ranson M, Jayson G. Targeted antitumour therapy –future perspectives. *Brit J Cancer*. 2005; 92 Suppl:1:528-31.
2. Frey III E. Salvo en ciertas áreas renales. Comunicación personal.
3. Gray LH, Cogger AD, Ebert M, et al. The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. *Br J Radiol*. 1953; 26:638-48.
4. Liu L, Simon C. Regulation of transcription and translation by hypoxia. *Cancer Biol Ther*. 2004;3(6):492-7.
5. Kinzler KW, Vogelstein B. Life (and death) in a malignant tumour *Nature* 1996; 379:19-20.
6. Graeber TG, Osmanian C, Jacks T. Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumours. *Nature*. 1996;379:88-91.

Miguel Fernández-Braña
Instituto Canario de Investigación del Cáncer (ICIC)