

LINFOMA NO-HODGKIN: EMPLEO DE EMISORES GAMMA PARA SU DIAGNÓSTICO

Doi: <http://dx.doi.org/10.35954/SM2015.34.1.7>

Ximena Camacho^a, Agustina Banchemo^a, Eloisa Riva^b, Paola Audicio^a, Pablo Cabral^a

a) Área Radiofarmacia, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

b) Departamento de Hematología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República

RESUMEN

El 24,8% de las muertes en Uruguay se deben a cáncer. El linfoma no Hodgkin (LNH) es la neoplasia hematológica más frecuente y quinta causa de muerte por cáncer en el mundo, más del 90% tiene origen en linfocitos B y expresan el antígeno CD20. El anticuerpo monoclonal Rituximab® reconoce con alta afinidad a dicho antígeno de superficie y es empleado en el tratamiento del LNH CD20 positivo. Actualmente, además del Rituximab® se encuentra aprobado por la FDA el uso del anticuerpo anti-CD20 asociado con emisores beta (131I, 90Y), los cuales potencian su efecto e incrementan su efectividad terapéutica.

En el presente trabajo se pretende demostrar que el desarrollo de nuevos agentes de imagen empleando anticuerpos monoclonales dirigidos contra blancos específicos de superficie celular y unidos a emisores gamma convencionales o emisores de positrones permitiría mejorar la sensibilidad y especificidad de la imagenología para la estadificación de esta patología.

PALABRAS CLAVE: CÁNCER

EMISORES GAMMA

LINFOMA NO HODGKIN

POSITRONES

INTRODUCCIÓN

Los linfomas (enfermedades linfoproliferativas) son un grupo heterogéneo de enfermedades malignas que comparten la característica de ser el resultado de una o más mutaciones somáticas en un linfocito progenitor. La progenie de la célula afectada generalmente tiene el fenotipo de célula B o T y también, aunque no tan frecuente, de células NK (natural killer).

Cualquier sitio del sistema linfático puede ser la localización primaria donde se origina la enfermedad, incluyendo los nódulos, intestino asociado al tejido linfático, piel y riñones. Los órganos como la tiroides, pulmón, hueso, cerebro o gónadas pueden estar involucrados tanto como metástasis desde los sitios linfáticos, o como manifestaciones primarias extrínsecas de la enfermedad.

Por convención, las enfermedades linfocíticas que involucran principalmente a la médula (y la sangre) son

llamadas “leucemias linfoides”, mientras que las originadas en cualquier otro tejido linfoide son llamadas “linfomas”. En el caso de las leucemias, los sitios linfáticos pueden estar involucrados como sitios secundarios, mientras que en los linfomas la médula es la que se relaciona como sitio secundario.

La incidencia del linfoma ha aumentado en los últimos años, tanto en hombres como en mujeres. El Linfoma No-Hodgkin (LNH) comprende un 5% de todas las neoplasias y causa aproximadamente el 3.4% de todas las muertes por cáncer (1). En el año 2005 se estimaron más de 56000 casos nuevos y 19200 muertes por LNH en Estados Unidos. El LNH es el sexto diagnóstico más frecuente en hombres norteamericanos y el quinto en mujeres norteamericanas, con un riesgo de vida de uno cada 66 hombres y uno cada 88 mujeres (2). Entre el año 1998 y el 2002 la tasa de incidencia fue de aproximadamente 19 por 100000 personas por año. En nuestro país, en el año 2000 fallecieron por esta enfermedad 90 hombres y 80 mujeres (3).

Recibido: Marzo 2015

Aceptado: Junio 2015

Correspondencia: Laboratorio de Radiofarmacia, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias,

Universidad de la República. Mataojo 2055, C.P. 11400, Montevideo, Uruguay.

Tel.: (+598)25250901/108; fax: (+598)25250895. E-mail: pcabral@cin.edu.uy

Muchos factores pueden estar involucrados en la patogénesis de los LNH. Las causas aún son desconocidas pero se asocian a varias razones (1):

- Exposición prolongada a productos químicos como pesticidas, solventes, herbicidas (postuladas como sustancias carcinogénicas);
- Enfermedades genéticas hereditarias, como el síndrome de Wiskott-Aldrich;
- Varias enfermedades virales, como el VIH;
- Algunas enfermedades autoinmunes se han relacionado con el LNH, como la enfermedad de Sjögren, lupus, tiroiditis de Hashimoto y artritis reumatoidea.

Los LNH son más frecuentes en adultos que en niños y presentan un incremento gradual con la edad, sobre todo a partir de los 50 años. La edad promedio al momento del diagnóstico es de 45 a 55 años. Existen diferencias clínico-patológicas importantes en los LNH de la infancia con los de la edad adulta. En niños la incidencia es rara, tiene predominio extranodal, entre el 50-70% presentan inmunofenotipo B, es agresivo y se cura en el 70 al 90% de los casos. En adultos la incidencia es alta, tiene predominio nodal, el 70 al 90% corresponden a inmunofenotipo B, el curso clínico es variable y la tasa de curación es de alrededor del 30% (4).

CLASIFICACIÓN

La clasificación del LNH puede ser muy confusa, debido a que existen muchos tipos y a que se han usado varios sistemas diferentes.

Inicialmente los linfomas se dividieron en dos grandes grupos, la enfermedad de Hodgkin y los LNH. Estos últimos presentaban diferencias tanto en el patrón histológico como en su comportamiento clínico.

En cuanto a los LNH existe una clasificación utilizada tradicionalmente la cual surgió en los años 70s (Working Formulation), dividiéndolos en:

- **Grado bajo:** Linfocítico pequeño, Folicular de células pequeñas hendidas, Folicular mixto de células pequeñas hendidas y grandes.
- **Grado intermedio:** Folicular de células grandes, Difuso

de células pequeñas hendidas, Difuso mixto de células pequeñas y grandes, Difuso de células grandes.

- **Grado alto:** Difuso de células grandes, Inmunoblástico, Linfoblástico, Células pequeñas hendidas.

La clasificación de Ann Arbor en 1971 surgió originalmente para el linfoma de Hodgkin, sin embargo es utilizada para el LNH. Esta clasifica los linfomas teniendo en cuenta los órganos afectados en cuatro estadios:

- **Estadio I:** Afectación de una única región ganglionar (I) o de un único sitio u órgano extraganglionar (I-E)
- **Estadio II:** Afectación de dos o más regiones ganglionares en el mismo lado del diafragma (II) o afectación localizada de un sitio extraganglionar u órgano (II-E) y una o más regiones ganglionares en el mismo lado del diafragma.
- **Estadio III:** Afectación de regiones linfáticas ganglionares a ambos lados del diafragma (III), que pueden estar acompañadas por afectación localizada de un sitio u órgano extraganglionar (III-E) o esplénica (III-S) o de ambas (III-ES)
- **Estadio IV:** Afectación difusa o diseminada de uno o más órganos extraganglionares distantes, con o sin afectación asociada de los ganglios linfáticos.

Todos estos estadios se sub-clasifican para indicar ausencia o presencia de síntomas (5).

En 1993, se propuso un modelo para asignar un pronóstico a los pacientes con LNH agresivo bajo tratamiento con quimioterapia con doxorubicin, llamado Índice Pronóstico Internacional (IPI) (6,7). Este modelo utiliza los datos clínicos como indicadores de factores de riesgo:

- Estadio de la enfermedad (III o IV)
- Nivel sérico de lactato deshidrogenasa (LDH)
- Número de sitios extranodulares afectados (>1)
- Estado del paciente (escala ECOG: >2)
- Edad del paciente (>60 años)

La clasificación más reciente y aceptada de los linfomas es de la Organización Mundial de la Salud (OMS). El sistema de OMS agrupa a los linfomas según la apariencia de éstos bajo un microscopio, las características cromosómicas de las células del linfoma, y la presencia de ciertos químicos en la superficie de las células.

La clasificación actual de la OMS de los tumores de los tejidos hematopoyéticos y linfoides en su cuarta edición (8), describe las diferentes categorías de las neoplasias linfoides en adultos y niños como sigue:

1. De células B precursoras:

Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA-B) / Linfoma Linfoblástico (LLB-B).

2. De células B periféricas:

Leucemia Linfocítica Crónica / Linfoma Linfocítico Pequeño

Leucemia Prolinfocítica, B

Linfoma Linfoplasmocítico

Linfoma de la zona marginal esplénica

Tricoleucemia

Mieloma / Plasmocitoma

Linfoma de la zona marginal, extraganglionar, tipo maltoma

Linfoma de la zona marginal, ganglionar

Linfoma folicular

Linfoma de células del manto

Linfoma de Burkitt / Linfoma "parecido al Burkitt"

Linfoma difuso de células grandes

3. De células "T" precursoras:

Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA-T) / Linfoma Linfoblástico (LLB-T)

4. De células "T" & "NK" periféricas:

Leucemia prolinfocítica, T

Leucemia linfocítica, de células grandes, granulares

Leucemia de células NK, agresiva

Leucemia / Linfoma de células T del adulto

Linfoma de células NK / T, extraganglionar, tipo nasal

Linfoma intestinal, tipo enteropatía

Linfoma hepatoesplénico

Linfoma similar a la paniculitis subcutánea

Micosis fungoides / Síndrome de Sézary

Linfoma de células T, periféricas

Linfoma angioinmunoblástico

Linfoma de células grandes, anaplásicas

Linfoma de células grandes, anaplásicas, cutáneo

Linfoma No Hodgkin de células B

Más del 90% de los LNH tienen origen en linfocitos B (9). Los LNH derivan de la transformación neoplásica del linfocito B en cualquier estadio de su diferenciación (8). Los genes involucrados en la diferenciación celular, la apoptosis y el crecimiento, son los responsables de este proceso.

Para mantener la proliferación celular, el material genético está permanentemente en replicación y entrelazamiento. Este proceso comprende la replicación del ADN, la formación de cromosomas durante la metafase, el intercambio de material genético y la conexión en dos nuevas cromátides homólogas que formarán nuevas células. Una traslocación puede dañar de forma significativa, dependiendo de qué gen específico haya sido afectado, la diferenciación celular y la apoptosis.

Si bien deben ocurrir posteriormente diferentes eventos moleculares para que una población de células B se transforme en neoplásica, los eventos moleculares primarios continúan siendo los más relevantes.

Las traslocaciones en los loci de los cromosomas tienen un impacto importante en la génesis del linfoma. Una de las traslocaciones mejor estudiadas es la t(14,18)(q32,q21) que provoca la yuxtaposición del gen bcl-2 con el segmento de unión de la cadena pesada de Ig, con la consecuente sobreexpresión de la proteína bcl-2.

La sobre expresión de esta proteína evita la muerte celular por apoptosis e induce un patrón de proliferación policlonal de células B maduras. Esta traslocación es característica del linfoma folicular, si bien puede encontrarse en otros tipos de linfomas (10).

Las células B presentan en su superficie marcadores específicos de linaje B como el CD20, CD19, CD22 y las Ig de superficie. La región variable de la Ig se encuentra mutada frecuentemente, presentando un isotipo único. La proliferación monoclonal conserva antígenos específicos de superficie de su precursor, siendo una característica distintiva de las diferentes entidades.

El antígeno CD20 es una proteína transmembrana de 33-37 kDa que se encuentra localizada en la superficie de los linfocitos pre-B y B maduros (11,12). Se expresa en el 90% de los LNH por las células B, pero no se encuentra en células germinales hematopoyéticas, en células pro-B, en células plasmáticas ni en ningún otro tejido normal (13). Se encuentra unido de forma estable a la superficie celular, por lo que es poco probable encontrarlo en forma libre en la circulación sanguínea; y por otro lado el mismo tiene una internalización limitada al unirse al anticuerpo (14). Está involucrado en la regulación de las primeras etapas de la activación y diferenciación del ciclo celular y se presume que también puede funcionar como un canal de los iones de calcio (9). Por lo cual debido a sus propiedades lo hacen ideal como blanco terapéutico (15,16).

Manifestaciones clínicas en LNH

Las adenopatías son la forma de presentación más frecuente en esta patología, las cuales están dadas por un agrandamiento no doloroso de los ganglios, de consistencia elástica, en las regiones cervicales, supraclaviculares, axilares o inguinales. La presencia de este tipo de adenopatías en el cuello, axila o ingle son hallazgos frecuentes en los estadios iniciales del LNH. A medida que la enfermedad progresa, los pacientes desarrollan síntomas sistémicos, como fatiga, pérdida de peso, fiebre, sudoración nocturna y signos específicos dependiendo de la localización de la enfermedad y los órganos comprometidos.

Diagnóstico de LNH

El diagnóstico del LNH debe realizarse a través de una biopsia en tejido ganglionar o extraganglionar y debe ser revisado por un patólogo experimentado. Se debe conseguir una muestra adecuada de tejido ya que la certeza diagnóstica mejora con las biopsias de mayor tamaño (17).

Cuando se establece el diagnóstico de linfoma en la muestra primaria, ya sea de una muestra de un ganglio o de un órgano afectado, debe realizarse la biopsia de medula ósea para poder realizar la estadificación de la enfermedad. El análisis histopatológico correcto requiere de una evaluación microscópica, citogenética, técnicas de hibridación in-situ (FISH), técnicas moleculares y correlación con los datos clínicos (17).

El primer paso fundamental es el examen microscópico para lograr describir la forma celular (pequeñas, grandes, hendidas, redondeadas, etc.), la forma del núcleo, la presencia de nucléolos, citoplasma y existencia de mitosis.

El segundo paso es la inmunotipificación, de forma tal de lograr realizar la identificación de la población monoclonal y caracterizarla como de células B (CD19, CD20, CD22) o de células T (CD2, CD3, CD7).

Una vez establecido el diagnóstico de linfoma, serán necesarias otras inmunotipificaciones con anticuerpos específicos para caracterizar el linfoma (folicular, manto, etc.). La correcta clasificación del linfoma determinará la utilización del tratamiento más adecuado al mismo.

Evaluación Imagenológica

La evaluación imagenológica del LNH es utilizada para la estadificación de la enfermedad según la clasificación de Ann Arbor. Se debe obtener una radiografía de tórax y además puede utilizarse ecografía de abdomen que revela la presencia de hepato o esplenomegalia, ascitis o linfadenopatías retroperitoneales.

Es necesaria la realización de Tomografías Computadas (TC) de cuello, tórax, abdomen y pelvis ya que presentan mejor definición anatómica, aunque tiene como desventaja (en cuanto a la estadificación tumoral) la dificultad para distinguir entre benignidad y malignidad. Los equipos híbridos como el PET/TC (Tomografía por Emisión de Positrones/Tomografía Computada) han mejorado la exactitud diagnóstica en el LNH, convirtiéndolos en la modalidad de imagen para la estadificación inicial, seguimiento y evaluación de la respuesta al tratamiento en pacientes con linfoma (18,19).

La utilización del PET/TC mediante el empleo de Fluordesoxiglucosa (18F-FDG) es actualmente el radiotrazador estándar, sin embargo éste presenta alta sensibilidad en LNH agresivos pero baja en LNH indolentes dada su baja actividad metabólica (20). Estudios PET-CT con 18-FDG han demostrado que el mismo posee una avidéz global del 91%, sin embargo la avidéz por el 18-FDG era menor en la enfermedad indolente (83%) que en la enfermedad agresiva (97%). La avidéz de 18-FDG se correlaciona mejor con el subtipo histopatológico del LNH que con las características clínicas. Los tipos de LNH indolentes como lo son el plasmacitoma, linfoma nodular de la zona marginal y linfoma folicular todos presentaron alta avidéz por el 18-FDG, mientras que los tipos de LNH agresivos ligados a las células T de tipo enteropáticos poseían una baja avidéz por 18-FDG. También se encontró que los linfomas de tipo marginal MALT poseían una avidéz del 54% y que el linfoma linfocítico de células pequeñas presentaba una avidéz relativamente baja por el 18-FDG del 83% (21). Cabe destacar que no existe en la clínica un agente de imagen específico de LNH.

TRATAMIENTO

El tratamiento del LNH depende del tipo histológico y del estadio. Los pacientes en estadios tempranos de LNH asintomáticos son poco frecuentes y pueden ser tratados con radioterapia. Los estadios avanzados son tratados con una variedad de regímenes de quimioterapia o inmunoterapia, entre ellos **Ciclofosfamida**, **Fluradabina** y **Rituximab**. Las tasas de respuesta inicial son generalmente entre 50% y 70 % con cualquiera de estos

tratamientos. La combinación de drogas como el **COP** (ciclofosfamida, vincristine y prednisona), **CHOP** (ciclofosfamida, doxorubicin, vincristine y prednisona) o **CHOP-Rituximab**, dan como resultado una muy alta respuesta (70%-100%).

Aunque la tasa de respuesta inicial de cualquiera de estos tratamientos es muy buena, la mayoría de los pacientes presentan reincidencia, la cual esta se caracteriza por una menor tasa de respuesta a los tratamientos anteriormente mencionados y la transformación en tipos histológicos más agresivos. En estos casos la enfermedad se considera incurable con quimioterapia convencional.

Anticuerpo anti-CD20

El anticuerpo anti-CD20 (Rituximab®) es un anticuerpo monoclonal quimérico murino/humano IgG1 kappa obtenido por ingeniería genética, que se une específicamente al antígeno CD20, y tiene un peso molecular de aproximadamente 145 KDa (22). La región variable que reconoce específicamente al antígeno CD20 (dominio Fab) es de origen murino mientras que la fracción constante (Fc) es humana y es capaz de reclutar células efectoras inmunes para mediar en la lisis de las células B (14).

Los mecanismos posibles de la lisis celular, como se mencionó anteriormente, incluyen citotoxicidad complemento-dependiente (CDC) como resultado de la unión de C1q, y la citotoxicidad celular anticuerpo-dependiente (ADCC) mediada por uno o más receptores Fc de la superficie de los granulocitos, macrófagos y células NK.

Rituximab® integra la primera generación de anticuerpos monoclonales anti-CD20 que se utiliza como terapia biológica en los síndromes linfoproliferativos crónicos de estirpe B, en enfermedades autoinmunes y en otras entidades donde hay proliferación de linfocitos B. Fue aprobado para el tratamiento del LNH de células B indolentes y es eficaz en la inducción de citotoxicidad dependiente de anticuerpos, en la activación de la ruta del complemento y en la inducción de la apoptosis con la activación de proteínas tirosinquinazas (23-34).

Radioinmunoterapia (RIT)

La RIT se define como el tratamiento en el cual el efecto citotóxico de las radiaciones ionizantes (radionucleidos) llega al tumor a través de anticuerpos que se unen específicamente al mismo.

DeNardo publicó varios trabajos sobre el uso de RIT en LNH utilizando un anticuerpo monoclonal anti-células B marcado con el radionucleido ¹³¹I con el cual se obtuvieron óptimos resultados en el 50% de los pacientes tratados (35-40).

También fueron realizados estudios utilizando asociando el anticuerpo anti-CD20 marcado con radionucleidos emisores beta adecuados para el uso en RIT, ¹³¹I-(Tositumomab) y ⁹⁰Y-(Ibritumomab), potenciando su actividad (41-44).

Otros radionucleidos como ¹⁷⁷-Lu y ¹⁸⁸-Re están siendo evaluados en este sentido (45-48).

En el año 2002 la FDA (Food and Drug Administration) aprobó el uso del ⁹⁰Y-Ibritumomab tiuxetan (Zevalin; IDEC Pharmaceuticals Corp., San Diego, CA), el primer anticuerpo radiomarcado para tratamiento de cáncer.

Actualmente se encuentran aprobados para uso en humanos dos agentes radioinmunoterapéuticos; ambos utilizan el anticuerpo monoclonal anti-CD20 pero marcado con dos diferentes emisores beta: ¹³¹I-anti-CD20 (Bexxar) e ⁹⁰Y-anti-CD20 (Zevalin), mostrando tasas de respuesta de entre 68% y 83% y remisión completa en 33% de pacientes con LNH en recaída o refractarios a otros tratamientos (49).

El tratamiento con Bexxar consiste en la administración secuencial, primero de una dosis de anticuerpo frío (tositumomab, anticuerpo murino) para mejorar la fijación específica posterior del radiomarcado al tumor (50,51), seguida de la dosis de ¹³¹I-tositumomab. El tratamiento también cuenta con un estudio dosimétrico inicial que permite calcular la dosis terapéutica específica para cada paciente, de forma de administrar una dosis corporal total no mayor a 75 cGy en pacientes con recuentos plaquetarios mayores a 150.000.

En el caso del tratamiento con Zevalin, se utiliza el anticuerpo Rituximab como predosis fría y el ¹¹¹In-Ibritumomab tiuxetan (IgG murino) para la toma de imágenes con fines dosimétricos.

Los estudios preclínicos y clínicos han demostrado que una predosis con anticuerpo frío optimiza la posterior biodistribución del anticuerpo marcado (52,53). El anticuerpo frío se une a linfocitos B maduros de la circulación, los cuales son eliminados (54,55), así como también a células que presentan receptores para la fracción Fc en todo el retículo endotelial (ej.: bazo). De esta manera, este anticuerpo frío pre-administrado bloquea la posterior unión del anticuerpo marcado a estos sitios, y por lo tanto mejora la biodistribución del anticuerpo marcado, aumentando la captación por parte del tumor y disminuyéndola en los órganos sanos (56,57).

Debido a que el ⁹⁰Y es emisor beta puro por lo que no se pueden obtener imágenes centellográficas con el mismo, y es debido a esto entonces que se usa el ¹¹¹In, el cual es un emisor gamma permitiendo evaluar la captación y cinética del trazador así como el cálculo de la dosis terapéutica específica para cada paciente.

También ha sido estudiado el ¹⁸⁸Re-anti-CD20 como otro posible radiofármaco terapéutico para LNH (58,59).

El uso de anticuerpos monoclonales contra determinantes antigénicos de las células tumorales es una estrategia de tratamiento actualmente bien establecida. Como se discutió, el anticuerpo Rituximab® es empleado para el tratamiento en primera línea de varios tipos de LNH, mostrando altas tasas de respuestas en LNH indolentes y mejoría en la sobrevida libre de enfermedad y sobrevida global de LNH agresivos asociado a quimioterapia (60,61). Varios trabajos existen actualmente sobre la marcación del mencionado anticuerpo para el tratamiento del LNH de células B que han sido publicados o están en curso (62-65).

Imagenología molecular (IM), medicina nuclear (MN) y empleo de ^{99m}Tecnecio como emisor gamma ideal

La IM comprende la representación visual, caracterización y cuantificación de los procesos biológicos a nivel celular y molecular en los seres vivos, combinando técnicas de imagen mínimamente invasivas, con herramientas de biología molecular /celular básica, química, medicina, farmacología, física médica, biomatemática y bioinformática (66). Esta disciplina comprende la realización de imágenes en 2 o 3 dimensiones y su cuantificación en el tiempo.

Las técnicas empleadas incluyen entre otras a la MN y las imágenes ópticas. Esto ha llevado a la definición de agentes de imagen, los cuales son sondas empleadas para visualizar, caracterizar y medir procesos biológicos en sistemas vivos. Es posible emplear moléculas endógenas y exógenas como agentes de imagen molecular. Para ello es necesario el desarrollo de instrumentos de imagen molecular que posibilitan la visualización y cuantificación en el espacio y en el tiempo de señales procedentes de agentes de imagen molecular.

La IM ofrece visiones únicas del cuerpo humano que permiten al médico obtener información que no es posible lograr mediante otras modalidades de imagen o que requieren de procedimientos más invasivos como biopsias o cirugías. Asimismo es capaz de identificar los procesos patológicos en sus estadios precoces y determinar la localización exacta del tumor, aun antes de que ocurran los síntomas o se puedan ser detectadas anomalías con otros test diagnósticos.

Por lo tanto es un campo multidisciplinario, en el cual las imágenes producidas reflejan las rutas celulares y metabólicas y los mecanismos in vivo de las enfermedades presentes dentro del contexto del microambiente fisiológico. El gran campo de aplicación de la imagenología molecular es la oncología (67).

Inicialmente, la IM en MN se basaba en una visualización estructural y anatómica. Más adelante, avances en biología molecular, MN y radiofarmacia, entre otras disciplinas, hicieron posible visualizar procesos celulares y bioquímicos. Actualmente, la búsqueda de nuevos radiotrazadores, se basa en la investigación de nuevas moléculas dirigidas específicamente a blancos o marcadores moleculares, que permitan la caracterización del tejido in vivo.

Múltiples técnicas de imágenes son utilizadas en MN para estudios del cáncer, dado que las imágenes y su cuantificación forman parte de los protocolos clínicos brindando información funcional, morfológica, metabólica y estructural.

Entre las técnicas imagenológicas encontramos a la centellografía, la PET y la tomografía por emisión de fotón único (SPECT). Todas estas modalidades han tenido una significativa contribución al mundo de la IM

(68). Estos sistemas son modalidades de imagen que utilizan moléculas marcadas radioactivamente, que se distribuirán en el organismo luego de su administración y las imágenes serán formadas por detección externa de los rayos gamma. Los principios básicos de la IM se han aplicado en MN desde hace más de cincuenta años. La IM tiene el potencial de optimizar la habilidad para detectar enfermedades en su fase inicial de desarrollo.

La MN constituye una subespecialidad que utiliza cantidades muy pequeñas de material radioactivo para diagnosticar y determinar la gravedad, o tratar, una variedad de enfermedades. Las imágenes se obtienen por medio de la detección de la energía emitida por una sustancia radiactiva - radiofármaco o radiotrazador- que se le administra al paciente por vía oral o intravenosa, vía inhalatoria o intracavitaria. Debido a que los procedimientos empleados pueden detectar actividades moleculares dentro del cuerpo, ofrecen la posibilidad de identificar enfermedades en sus etapas tempranas, como así también las respuestas inmediatas de los pacientes a las intervenciones terapéuticas.

El ^{99m}Tecnecio es un radionucleído indicado para la síntesis de éste tipo de agentes de imagen debido a sus óptimas características (69,70): gran disponibilidad en centros de MN convencionales, su química está bien establecida con adecuadas propiedades nucleares [$t_{1/2} = 6,04$ h, $E_{\gamma} = 140$ Kev (89%)], su bajo costo, entre otros.

La química del marcado de péptidos como de proteínas con este radionucleído, ya sea de forma directa o indirecta a través de agentes quelantes bifuncionales (BFC) actualmente está bien establecida (71,72). Los anticuerpos han demostrado ser marcadores interesantes para aplicaciones de imagenología tumoral y entre sus ventajas son su alta afinidad y especificidad para su ligando.

En este contexto, el desarrollo de nuevos agentes dirigidos contra blancos específicos de superficie celular permitiría mejorar la sensibilidad y especificidad de la imagenología para la estadificación del LNH, debido a como fuera mencionado anteriormente, el empleo de Fluordesoxiglucosa (¹⁸F-FDG) en PET/CT presenta alta sensibilidad en LNH agresivos pero baja en LNH indolentes sumado a su baja actividad metabólica, no superando el 50% en LNH linfocítico de células pequeñas y LNH de zona marginal (73).

En los últimos años ha resurgido interés en el empleo de anticuerpos monoclonales y sus fragmentos marcados con emisores gamma convencionales o emisores de positrones (^{124}I , ^{64}Cu , ^{89}Zr , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ y ^{67}Ga) para creación de nuevos agentes de imagen (74,75).

Por lo tanto, la síntesis y evaluación de nuevos agentes de imagen molecular específicos para el LNH mediante la marcación del anticuerpo monoclonal Rituximab® con emisores gamma podría ser empleado para el diagnóstico, estadificación y seguimiento del LNH debido a su alta especificidad por el antígeno CD20,

Cabe destacar que en estudios de imagen por PET en pequeños animales empleando fragmentos de anticuerpos monoclonales marcados con ^{124}I y ^{64}Cu han demostrado alta captación en tumores como carcinomas de colon, mama y próstata con una relación blanco-background más elevada y en menor tiempo si se los compara en relación a los anticuerpos intactos (76,77), siendo también potenciales agentes de imagen moleculares.

CONCLUSIONES

El LNH es la neoplasia hematológica más frecuente y quinta causa de muerte por cáncer en el mundo y debido a ello es de vital importancia el desarrollo de nuevos agentes de imagen para su diagnóstico capaces de mejorar la sensibilidad y especificidad de la imagenología para el diagnóstico, estadificación y seguimiento de esta patología.

El empleo de anticuerpos monoclonales marcados con emisores gamma convencionales podría ser una estrategia clave para lograrlo. Una de estas estrategias podría ser la síntesis, la evaluación química y biológica del anticuerpo monoclonal Rituximab marcado con $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Desde hace un tiempo nuestro grupo ha llevado a cabo estudios pre-clínicos en modelos animales de LNH obteniendo óptimos resultados; los cuales nos proyectan a pensar que el empleo de dicho anticuerpo podría ser de gran utilidad en la práctica clínica diaria donde existen variantes de LNH, que no son ávidas por el $^{18}\text{-FDG}$ lo cual dificulta determinar la extensión de la enfermedad y su eventual respuesta a la terapia.

SUMMARY

Twenty-four point eight percent of deaths in Uruguay are caused by cancer. Non-Hodgkin lymphoma (LNH in Spanish) is the most frequent hematologic neoplasia and ranks in fifth place as the cause of death by cancer in the World. Over 90% starts in B-lymphocytes and express CD20 antigen. The monoclonal antibody Rituximab® acknowledges this surface antigen with a high affinity and it is used for the treatment of CD20 positive LNH. Currently, in addition to Rituximab®, the FDA has approved the use of anti-CD20 antibody associated to beta emitters (^{131}I , ^{90}Y), which can strengthen their effect and increase their therapeutic effectiveness.

This paper intends to demonstrate that the development of new imaging agents using monoclonal antibodies aimed against specific targets of the cell surface and linked to conventional gamma emitters or positron emitters, might allow for a better sensitivity and specificity of imaging for the staging of this pathology.

KEY WORDS: NEOPLASMS
GAMMA OUTFALLS
LYMPHOMA, NON-HODGKIN
ELECTRONS

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Alexander D, Mink J, Adami O, Chang T, Cole P, Mandel J, et.al. The non-Hodgkin lymphomas: A review of the epidemiologic literature. *Int J Cancer* 2007; 120(S12):1-39.
- (2) Australian Institute of health and welfare and australasian association of cancer registries. *Cancer in Australia*. Canberra: Australian Institute of Health and welfare, 2003.
- (3) Vassallo J, Barrios E. *Actualización Ponderada de los Factores de Riesgo del Cáncer*. Montevideo: Comisión Honoraria de Lucha contra el Cáncer, 2003.

- (4)Rivera R, Martinez R, Borrego R, Lanche T. Linfoma no Hodgkin de niño, Comparacion de dos protocolos de quimioterapia. *Revista del Instituto Nacional de Cancerología* 1987; 33(1). Disponible en: <http://www.incan.org.mx/revistaincan/index.php?id=1247529194> [Consulta 09/06/2015].
- (5)Rosenberg A. Validity of the Ann Arbor staging classification for the non-Hodgkin's Lymphomas. *Cancer Treat Rep* 1977; 61(6):1023-1027.
- (6)Anderson J, Armitage O, Berger F, Cavalli F, Chan C, Close J, et.al. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of Non-Hodgkin's Lymphoma. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Blood* 1997; 88(11):3909-3918.
- (7)Lichtman M, Kipps T, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal J. *Williams Hematology*. 7th.ed. New York : McGraw-Hill Medical, 2006.
- (8)Jaffe E, Harris N, Stein H, Vardiman J, ed. *World Health Organization Classification of tumor. Pathology and genetics of Tumor of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon : IARC PRESS, 2001.
- (9)Tedder F, Engel P. CD20: a regulator of cell-cycle progression of B lymphocytes. *Immunol Today* 1994; 15(9):450-4.
- (10)Deghiedy H, Fouda M, Shahin D, Shamaa S, El-Bedewy A, Abd El-Ghaffar H. Diagnostic and prognostic utility of t(14;18) in follicular lymphoma. *Acta Haematol* 2007; 118(4):231-236.
- (11)Einfeld A, Brown P, Valentine A, Clark A, Ledbetter A. Molecular cloning of the human cell CD20 receptor predicts a hydrophobic protein with multiple transmembrane domains. *EMBO J* 1998; 7(3):711-17.
- (12)Valentine A, Meier E, Rossie S, Clark A. Phosphorylation of the CD20 phosphoprotein in resting B lymphocytes. Regulation by protein kinase. *C J Biol Chem* 1989; 264(19):11282-11287.
- (13)Tedder F, Boyd W, Freedman S, Nadler M, Schlossman F. The B cell surface molecule B1 is functionally linked with B cell activation and differentiation. *J Immunol* 1985; 135(2): 973-979.
- (14)Sieber T, Schoeler D, Ringel F, Pascu M, Schriever F. Selective internalization of monoclonal antibodies by B-cell chronic lymphocytic leukemia cells. *Br J Haematol* 2003; 121(3):458-461.
- (15)Cragg S, Walshe A, Ivanov O, Glennie J. The biology of CD20 and its potential as a target for mAb therapy. *Curr Dir Autoimmun* 2005; 8:140-174.
- (16)McLaughlin P, Grillo-López J, Link K, Levy R, Czuczman S, Williams E, et.al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* 1998; 16(8):2825-2833.
- (17)Hanson C, Kurtin P, Katzmann J, Hoyer D, Li Y, Hodnefield M, et.al. Immunophenotypic analysis of peripheral blood and bone marrow in the staging of B-cell malignant lymphoma. *Blood* 1999; 94(11):3389-3896.
- (18)London K, Cross S, Onikul E, Dalla-Pozza L, Howman-Giles R. 18F-FDGPET/CT in pediatric lymphoma: comparison with conventional imaging. *Eur J Nucl Med Mol Imag* 2011; 38(2):274-284.
- (19)Olafsen T, Betting D, Kenanova E, Salazar B, Clarke P, Said J, et.al. Recombinant anti-CD20 antibody fragments for small-animal PET imaging of B-cell lymphomas. *J Nucl Med* 2009; 50(9):1500-8.
- (20)Weiler-Sagie M, Bushelev O, Epelbaum R, Dann J, Haim N, Avivi I, et.al. 18F-FDG avidity in lymphoma readdressed: a study of 766 patients. *J Nucl Med* 2010; 51(1):25-30.
- (21)Gómez R, González Y, Dita M, Fernández J, Espinosa E, Arencibia A. Tumor de la órbita como forma poco común de presentación de un linfoma no hodgkiniano extranodal de la zona marginal. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2010; 26(1):76-82.
- (22)McLaughlin P, Grillo-López J, Link K, Levy R, Czuczman S, Williams E, et.al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* 1998; 16(8): 2825-2833.

- (23) Coiffier B, Lepage E, Briere J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002; 346(4):235-242.
- (24) Johnson P, Glennie M. The mechanisms of action of rituximab in elimination of tumor cells. *Semin Oncol* 2003; 30(1):3-8.
- (25) Golay J, Gramigna R, Facchinetti V, Capello D, Gaidano G, Introna M. Acquired immunodeficiency syndrome-associated lymphomas are efficiently lysed through complement-dependent cytotoxicity and antibody-dependent cellular cytotoxicity by rituximab. *Br J Haematol* 2002; 119(4):923-929.
- (26) Cragg S, Walshe A, Ivanov O, Glennie J. The biology of CD20 and its potential as a target for mAb therapy. *Curr Dir Autoimmun* 2005; 8:140-174.
- (27) Coffey J, Hodgson D, Gospodarowicz M. Therapy of non Hodgkin's lymphoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003; 30(1):S28-S36.
- (28) Gopal A, Press O. Clinical applications of anti-CD20 antibodies. *J Lab Clin Med* 1999; 134(5):445-450.
- (29) Tallman M. Monoclonal antibody therapies in leukemias. *Semin Hematol* 2002; 39(4):12-19.
- (30) Withoff S, Bijman A, Stel J, Delahaye L, Calogero A, De Jonge M, et al. Characterization of BIS20x3, a bi-specific antibody activating and retargeting T-cells to CD20-positive B-cells. *Br J Cancer* 2001; 84(8):1115-1121.
- (31) Avivi I, Robinson S, Gollgstone A. Clinical use of rituximab in haematological malignancies. Minireview. *Br J Cancer* 2003; 89(8):1389-1394.
- (32) Johnson P, Glennie M. Rituximab: mechanisms and application. *Br J Cancer* 2001; 85(11):1619-1623.
- (33) Emmanouilides C. Radioimmunotherapy for non-hodgkin lymphoma : historical perspective and current status. *J Clin Exp Hematop* 2007; 47(2):43-60.
- (34) Kaminski S, Zasadny R, Francis R, Milik W, Ross W, Moon D, et al. Radioimmunotherapy of B-cell lymphoma with (131I)anti-B1 (anti-CD20) antibody. *N Engl J Med* 1993; 329(7):459-465.
- (35) DeNardo J, DeNardo L, O'Grady L, Macey J, Mills L, Epstein L, et al. Treatment of a patient with B-cell lymphoma by I-131 Lym-1 monoclonal antibodies. *Int J Biol Markers* 1987; 2(1):49-53.
- (36) Palanca-Wessels C, Press O. Improving the Efficacy of Radioimmunotherapy for Non-Hodgkin's Lymphomas. *Cancer* 2010; 116(4 Suppl): 1126-1133.
- (37) DeNardo L, DeNardo J, O'Grady F, Levy B, Adams P, Mills L. Fractionated radioimmunotherapy of B-cell malignancies with I-131 Lym-1. *Cancer Res* 1990; 50(3 suppl.): 1014S-1016S.
- (38) DeNardo J, DeNardo L, O'Grady F, Hu E, Sytsma M, Mills L, et al. Treatment of B-cell malignancies with I-131 Lym-1 monoclonal antibodies. *Int J Cancer* 1988; 41(S3):96-101.
- (39) Denardo L, Lewis P, Denardo J, O'Grady F. Effects of Lym-1 radioimmunoconjugated on refractory chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 1994; 73(5):1425-1432.
- (40) DeNardo L, DeNardo J, Goldstein S, Kroger A, Lamborn R, Levy N, et al. Maximum tolerated dose, toxicity and efficacy of I-131 Lym-1 antibody for fractionated radioimmunotherapy of non-Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol* 1998; 16(10):3246-3256.
- (41) McKinney M, Beaver A. Yttrium-90 ibiritumomab tioxetan in the treatment of non-Hodgkin lymphoma. *Blood and Lymphatic Cancer: Targets and therapy* 2014; 4:45-59.
- (42) Dillman R. Radioimmunotherapy of B-cell lymphoma with radiolabelled anti-CD20 monoclonal antibodies. *Clin Exp Med* 2006; 6(1):1-12.
- (43) Goldengerg D. The role of radiolabeled antibodies in the treatment of non-Hodgkin's lymphoma: the coming of age of radioimmunotherapy. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2001; 39(1):195-201.
- (44) Oliver P, Robles M, Trindade V, Cabral P, Tortarolo V, Nappa A, et al. Labelling and biological valuation of anti-CD-20 for treatment of non-Hodgkin's lymphoma. *Nucl Med Rev* 2005; 8 (Suppl. A):16.

- (45)Audicio P, Castellano G, Tassano M, Rezzano M, Fernandez M, Riva E, et.al. [177Lu]DOTA-anti-CD20: Labeling and pre-clinical studies. *Appl Radiat Isot* 2011; 69(7):924-8.
- (46)Leahy M, Turner J. Radioimmunotherapy of relapsed indolent non-Hodgkin lymphoma with 131I-rituximab in routine clinical practice: 10-year single-institution experience of 142 consecutive patients. *Blood* 2011; 117(1):45-52.
- (47)Coiffier B, Lepage E, Briere J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R, et.al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002; 346:235-42.
- (48)Juweid M. Radioimmunotherapy of B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma: From clinical trials to clinical practice. *J Nucl Med* 2002; 43(11):1507-29.
- (49)Whal R, Kroll S, Zasadny K. Patient specific whole body dosimetry: Principles and a simplified method for clinical implementation. *J Nucl Med* 1998; 39(8):14S-20S.
- (50)Kaminski M, Zasadny K, Francis I, Milik A, Ross C, Moon S, et.al. Radioimmunotherapy of Bcell lymphoma with 131Ianti-B1 (antiCD20) antibody. *N Engl J Med* 1993; 329(7):459-65.
- (51)Knox S, Goris M, Trisler K, Negrin R, Davis T, Liles T, et.al. Yttrium-90-labeled anti-CD20 monoclonal antibody therapy of recurrent B-cell lymphoma. *Clin Can Res* 1996; 2(3):457-70.
- (52)Buchsbaum D, Wahl R, Glenn S, Normolle D, Kaminski M. Improved delivery of radiolabeled anti-B1 monoclonal antibody to Raji lymphoma xenografts by predosing with unlabeled anti-B1 monoclonal antibody. *Cancer Res* 1992; 52(3):637-42.
- (53)Dillman R, Shawler D, Sobol R, Collins H, Beauregard J, Wormsley S, et.al. Murine monoclonal antibody therapy in two patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1982; 59(5):1036-1045.
- (54)Reff M, Carner, K, Chambers K, Chinn P, Leonard J, Raab R, et.al. Depletion of B cell in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood* 1994; 83(2):435-45.
- (55)Wiseman G, White C, Stabin M, et.al. Phase I/II 90Y-Zevalin (yttrium-90 ibritumomab tiuxetan, IDEC-Y2B8) radioimmunotherapy dosimetry results in relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Nucl Med* 2000; 27:766-77.
- (56)Wiseman G, White C, Sparks R, Erwin W, Podoloff D, Lamonica D, et.al. Biodistribution and dosimetry results from a phase III prospectively randomized control trial of ZevalinTM radioimmunotherapy for low-grade, follicular, or transformed B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2001; 39(1):181-94.
- (57)Ferro-Flores G, Torres-García E, García-Pedroza L, Arteaga de Murphy C, Pedraza-López M, Garnica-Garza H. An efficient, reproducible and fase preparation of 188Re-anti-CD20 for the treatment of non-Hodgkin's lymphoma. *Nucl Med Communications* 2005; 26(9):793-99.
- (58)Knop S, Jakob A, Kanz L, Hebart H, Bares R, Dohmen B. 186Rhenium labeled anti-CD20 antibody radioimmunotherapy followed by autologous peripheral blood stem cell transplantation in patients with relapsed or refractory non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2004; 103(3):1175.
- (59)Marcus R, Imrie K, Solal-Celigny P, Catalano J, Dmoszynska A, Raposo J, et.al. Phase III study of R-CVP compared with cyclophosphamide, vincristine, and prednisone alone in patients with previously untreated advanced follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2008; 26(28):4579-86.
- (60)Dietlein M, Pels H, Schulz H, Staak O, Borchmann P, Schomäcker K, et.al. Imaging of central nervous system lymphomas with iodine-123 labeled rituximab. *Eur J Haematol* 2005; 74(4):348-52.
- (61)Melhus K, Larsen R, Stokke T, Kaalhus O, Selbo P, Dahle J. Evaluation of the binding of radiolabeled rituximab to CD20-positive lymphoma cells: an in vitro feasibility study concerning low-dose-rate radioimmunotherapy with the alpha-emitter 227Th. *Cancer Biotherm Radiopharm* 2007; 22(4):469-79.

- (62)Dias C, Jeger S, Osso J, Müller C, De Pasquale C, Hohn A, et.al. Radiolabeling of rituximab with (188)Re and (99m)Tc using the tricarbonyl technology. *Nucl Med Biol* 2011; 38(1):19-28.
- (63)Malviya G, Anzola K, Podestà E, Laganà B, Del Mastro C, Dierckx R, et.al. ^{99m}Tc-labeled Rituximab for Imaging B Lymphocyte Infiltration in Inflammatory Autoimmune Disease Patients. *Mol Imaging Biol* 2012; 14(5):637-46.
- (64)Pandey U, Kameswaran M, Dev Sarma H, Samuel G. ^{99m}Tc carbonyl DTPA–Rituximab: Preparation and preliminary bioevaluation. *Appl Radiat Isot* 2014; 86:52-6.
- (65) Mankoff D. A definition of molecular imaging. *J Nucl Med* 2007; 48(6):18N-21N.
- (66)Phelps M. PET: the merging of biology and imaging into molecular imaging. *J Nucl Med* 2000; 41(4):661-81.
- (67)Meikle S, Kench P, Kassiou M, Banati R. Small animal SPECT and its place in the matrix of molecular imaging technologies. *Phys Med Biol* 2005; 50(22):R45-61
- (68)Urbain J, Vekemans M, Lemieux S, Cosenza S, Senadhi V, Milestone B, et.al. Nuclear oncology and the imagine concept. *Acta Radiol Suppl* 1997; 412:21-8.
- (69)Reilly R. Immunoscintigraphy of tumours using Tc labelled monoclonal -antibodies: a review. *Nucl Med Commun* 1993; 14:34-59.
- (70)Mather S. Radiolabelled antibodies and peptides. En: Sampson C, editor. *Textbook of radiopharmacy theory and practice*. 3a.ed. New York : Gordon and Breach Science Publishers, 1990. p.63-82.
- (71)Rennen H, Boerman O, Koenders E, Oyen W, Corstens F. Labeling proteins with Tc-99m via Hydrazinonicotinamide (HYNIC): Optimization of the conjugation reaction. *Nucl Med Biol* 2000; 27(6):599-604.
- (72)Jurisson S, Berning D, Jia W, Ma D. Coordination compounds in nuclear medicine. *Chemical Reviews* 1993; 93(3):1137-1156.
- (73)Olafsen T, Betting D, Kenanova V, Salazar F, Clarke P, Said J, et.al. Recombinant anti-CD20 antibody fragments for small-animal PET imaging of B-cell lymphomas. *J Nucl Med* 2009; 50(9):1500-8.
- (74)Wu A, Olafsen T. Antibodies for molecular imaging of cancer. *Cancer J* 2008; 14(3):191-97.
- (75)Zimmermann K, Gianollini S, Schubiger P, Novak-Hofer I. A triglycine linker improves tumor uptake and biodistributions of ⁶⁷Cu-labeled anti-neuroblastoma MAb chCE7 F(ab)₂ fragments. *Nucl Med Biol* 1999; 26(8):943-50.
- (76)Sundaresan G, Yazaki P, Shively J, Finn R, Larson S, Raubitschek A, et.al. ¹²⁴I-labeled engineered anti-CEA minibodies and diabodies allow high-contrast, antigen-specific small-animal PET imaging of xenografts in athymic mice. *J Nucl Med* 2003; 44(12):1962-69.
- (77)Wu A, Yazaki P, Tsai S, Nguyen K, Anderson A, McCarthy, et.al. High-resolution microPET imaging of carcinoembryonic antigen-positive xenografts by using a copper-64-labeled engineered antibody fragment. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(15):8495-8500.