

ACCION DE RADIOSENSIBILIZADORES SOBRE EL EFECTO TERAPEUTICO DEL ^{131}I

Agote Marcos¹, Kreimann Erica¹, Krawiec Leon³, Bocanera Laura V², Dagrosa
Maria A¹, Juvenal Guillermo J, Pisarev Mario A.²

¹Becario de doctorado CNEA

²CNEA – ³CONICET

Contacto: Pisarev@cnea.gov.ar

Div. Bioquímica Nuclear y Patología de la Radiación, U.A. Radiobiología, C.A.
Constituyentes

RESUMEN

Los presentes estudios tuvieron por objeto investigar la posible aplicación de un radiosensibilizador, nicotinamida, para aumentar el efecto terapéutico del radioyodo. Se utilizaron ratas normales y bociosas tratadas con dosis crecientes de ^{131}I , con y sin tratamiento simultáneo con nicotinamida. Los resultados obtenidos indican que el tratamiento con este fármaco aumenta significativamente el efecto radiodestructor de la tiroides inducido por el radioyodo. Bajo estas condiciones experimentales la nicotinamida induce un aumento significativo de la vascularización tiroidea, sin cambios en la actividad de ADP-ribosilación de proteínas. Estos resultados demuestran, por primera vez, el efecto radiosensibilizador de la nicotinamida frente al ^{131}I , y abren la posibilidad de uso en el tratamiento de pacientes con hipertiroidismo o cáncer diferenciado de tiroides.

INTRODUCCION

Entre los principales efectos moleculares causados por la radiación debe mencionarse la ruptura de las hebras del ADN nuclear. Cuando la dosis aplicada no es letal se inicia un proceso de reparación que involucra la ADP-ribosilación de las proteínas nucleares. Se ha demostrado en una serie de tejidos que luego de la irradiación el contenido total de NAD disminuye, en tanto que la poli-ADP ribosilación de las proteínas nucleares aumenta. La inhibición de la ADP-ribosilación nuclear altera el proceso de reparación del daño por radiación y aumenta la radiosensibilidad de los tejidos. Otro de los mecanismos propuestos para explicar el efecto radiosensibilizador de la nicotinamida es su acción vasodilatadora, que aumenta el flujo sanguíneo y por consiguiente el grado de oxigenación tisular. Los compuestos utilizados comprenden a la nicotinamida, la 3- aminobenzamida y moléculas relacionadas. Entre los tejidos ensayados con éxito en cultivos se incluyen: sarcoma de Ewing, sarcoma osteogénico, células CHO, fibroblastos, etc. Por otra parte también se ha demostrado la eficacia de estos compuestos en la inducción de radiosensibilidad a radiación externa de tumores en animales de experimentación. Es importante remarcar que a los efectos

radiosensibilizadores de la nicotinamida se agrega como dato importante su falta de efectos tóxicos indeseables en humanos.

El cáncer de tiroides es una de las formas más comunes de tumores endocrinos, representando alrededor del 0,5 al 1,5% de los tumores. El consenso general es que el cáncer tiroideo debe ser tratado quirúrgicamente, con una casi total ablación de la glándula. La tiroidectomía total es luego completada por la administración de ^{131}I . Este procedimiento tiene varias ventajas: a) permite un scanning de cuerpo entero con ^{131}I a fin de detectar metástasis (menos útil si quedan remanentes de tejido tiroideo en el cuello); b) como no hay tejido tiroideo en el cuello permite utilizar la tiroglobulina sérica como marcadora de tejido metastásico; c) el tratamiento de las metástasis con ^{131}I es más eficiente si no hay restos tiroideos.

Esta forma de terapia ha sido utilizada con éxito durante los últimos 40 años. Sin embargo este tipo de tratamiento, que implica altas dosis de radioyodo, requiere que se tomen en consideración medidas especiales de seguridad a fin de evitar la irradiación innecesaria de las personas que puedan estar en contacto con los pacientes. Por otra parte se debe hospitalizar al paciente durante varios días. Entre otros problemas, esto trae aparejado un aumento en el costo del tratamiento. Sería deseable, por lo tanto, obtener la misma efectividad en el tratamiento del cáncer de tiroides con dosis más bajas de radioyodo. Los presentes estudios tuvieron por objeto investigar la posible aplicación de la nicotinamida, como radiosensibilizador, en el tratamiento de tumores de tiroides tratados con irradiación interna (^{131}I).

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El objetivo del presente proyecto es el estudio del efecto de un radiosensibilizador acoplado a la radiación en modelos experimentales in vivo. Como modelo se utiliza a la glándula tiroides. A fin de lograr este objetivo se usa como radiosensibilizador a la nicotinamida.

Ratas Wistar sin bocio fueron tratadas con diferentes dosis de ^{131}I con y sin administración de nicotinamida desde 3 días antes de la inyección del radioyodo.). En otra serie de experimentos se indujo previamente bocio en las ratas mediante la administración de un bociógeno (metilmercaptoimidazol, MMI, gentilmente donado por Laboratorios Dr. Gador S.A.) en una dosis de 5 mg/día durante 15 días. Al término del tratamiento las ratas fueron dejadas recuperar durante 15 días ("Wash-out") y luego se inició el estudio con y sin la administración de nicotinamida (dosis variables) con la adición de radioyodo (dosis variables 25-500 uCi) durante 1 mes. Al finalizar este tratamiento los animales fueron sacrificados, determinándose la relación peso tiroideo/peso corporal.

Para investigar el mecanismo de acción de la nicotinamida se realizaron dos tipos de determinaciones. Por un lado se analizó la ADP-ribosilación de proteínas en homogenatos de tiroides incubados con 3H-NAD durante 10 min a 32 C. Al término de la incubación se precipitaron las proteínas con TCA y se determinó la radiactividad luego de 2 lavados en un contador de centelleo líquido. El flujo sanguíneo tiroideo fue

determinado mediante la inyección intrayugular de una dosis trazadora de ^{86}Rb . La tiroidea fue obtenida a los 2 min post-inyección midiéndose su radiactividad en un contador gamma automático.

RESULTADOS

En primer lugar, se investigó el efecto posible de la nicotinamida sobre el peso tiroideo de las ratas (cepa Wistar), Como se muestra en la Tabla 1, el tratamiento con distintas dosis no induce cambios significativos en el peso de la glándula.

En los grupos control, el radioyodo indujo una marcada y progresiva reducción del peso glandular, efecto que se vió aumentado en los animales tratados con nicotinamida (Tabla 2). Como este estudio tiene como fin una mejora en la terapia del hipertiroidismo y de los tumores de tiroides, estos estudios se repitieron en ratas a las cuales se les administró un bociógeno (metilmercaptoimidazol, MMI). Ratas Wistar fueron tratadas con MMI, 5 mg/día durante 15 días, seguidos por 15 días sin tratamiento. Tres días antes de la administración del isótopo se comenzó la inyección de nicotinamida en diferentes dosis, las que se continuaron hasta los 30 días. Luego de los 3 días de nicotinamida las ratas recibieron dosis variables de ^{131}I (50-500 uCi). Al cabo de 1 mes los animales fueron sacrificados y la relación peso tiroideo/peso corporal fué determinada. Los resultados demostraron nuevamente que la destrucción tiroidea (radioyodotiroidectomía) fue significativamente mayor en las ratas tratadas con nicotinamida que en las controles (Tabla 3).

En trabajos previos demostramos que la nicotinamida inhibe (in vitro) la ADP ribosilación en los núcleos de células tiroideas. Se analizó la ADP ribosilación de proteínas nucleares de tiroides de ratas tratadas con nicotinamida durante 15 días, mediante la incorporación de $^3\text{H-NAD}$ a la fracción precipitable con TCA, no observándose diferencias significativas entre las muestras de animales tratados y los controles. Los resultados fueron los siguientes: controles 1426 ± 198 dpm/ μg ADN; tratados con nicotinamida dieron 1544 ± 53 dpm/ μg ADN(no significativo).

Dado que otro de los efectos de la nicotinamida es el incremento del flujo sanguíneo, debido a su efecto vasodilatador, se determinó el flujo sanguíneo tiroideo mediante la administración i.v. de ^{86}Rb . Los resultados obtenidos demostraron que la nicotinamida aumentó significativamente el flujo sanguíneo tiroideo. (Tabla 4).

CONCLUSIONES

Los presentes resultados demuestran, por primera vez, la eficacia de la nicotinamida para aumentar la radiosensibilidad tiroidea a los efectos terapéuticos del ^{131}I ; este efecto radiosensibilizador sería debido a un aumento del flujo sanguíneo, que aumenta la oxigenación tisular. Estos estudios abren la posibilidad de su transferencia a la terapéutica del hipertiroidismo y de los tumores tiroideos en seres humanos.

FIGURAS Y TABLAS

Tabla 1. Influencia de la nicotinamida en el peso tiroideo

Tratamiento		Peso Corporal	Peso Tiroideo / peso corporal
Controles		165 ± 3	9.5 ± 0.5
Nicotinamida mg/día	10	164 ± 3	7.6 ± 0.5
Nicotinamida mg/día	20	159 ± 7	8.8 ± 0.3
Nicotinamida mg/día	40	156 ± 6	10.4 ± 0.5

Las ratas fueron tratadas con diferentes dosis de nicotinamida durante 15 días. Cada valor se calculó como el promedio de 7 animales ± S.E.M. Los valores no presentan diferencias significativas entre los distintos grupos.

Tabla 2. Influencia de la nicotinamida en la respuesta tiroidea a diferentes dosis de ¹³¹I

¹³¹ I	Sin nicot.	Con nicot.	p<*
Control	A) 10.09 ± 0.54		
40 uCi	B) 10.48 ± 0,77 (+3%)	E) 7.67 ± 0.43 (-24%)	0.01**
80 uCi	C) 8.30 ± 0.36 (-18%)	F) 6.31 ± 0.35 (-38%)	0.05**
150 uCi	D) 8.05 ± 0.25 (-21%)	G) 5.95 ± 0.14 (-42%)	0.05**

Cada valor se muestra como el promedio ± S.E.M. del peso tiroideo / peso corporal de 5-6 ratas. Las cifras entre paréntesis indican el grado de disminución del peso tiroideo / peso corporal comparado con los controles.

* p< vs animales control fue: 40 μCi : n.s.; 80 μCi: p< 0.01; 150 μCi: p< 0.05; 40 μCi + 30 mg/día nicotinamida: p< 0.01; 80 μCi + nicotinamida: p< 0.01 + 150 μCi + nicotinamida: p< 0.001

** : indica el grado de las diferencias significativas entre grupos tratados con la misma dosis de radioyodo, con y sin nicotinamida.

Tabla 3. Influencia de la nicotinamida en la radiosensibilidad de la tiroides en ratas bociosas.

Tratamiento	Peso tir / peso corp.	p<
A) MMI	10.56 ± 0.3	A vs B: n.s. A vs C: 0.001 A vs D: 0.001
B) MMI + Nicotinamida	10.25 ± 0.5	B vs C: 0.01 B vs D: 0.001
C) MMI + 131-I	7.90 ± 0.5 (25%)	C vs D: 0.01
D) MMI + 131-I + Nicotinamida	5.70 ± 0.3 (47%)	

El bocio fue inducido con la inyección de MMI durante 15 días. Luego de 15 días sin tratamiento, las ratas fueron sometidas a tratamientos combinados con 75 uCi 131-I y/o 20 mg/día nicotinamida. Cada valor es el promedio de 7-8 rats ± S.E.M. Los números entre paréntesis indican la disminución de la relación peso tiroideo / peso corporal versus sus respectivos controles

Tabla 4. Influencia de la nicotinamida en la incorporación tiroidea de ⁸⁶Rb

Tratam.	Dpm / mg tiroides	p<	Dpm / 0.5 ml sangre	p<
Controles	340 ± 54		1,135 ± 86	
Nicotinamida 20 mg/día	624 ± 42	0,05*	1,043 ± 75	n.s.*
Nicotinamida 40 mg/día	624 ± 59	0,05*	1,279 ± 97	n.s.*

Grupos de 6-8 ratas fueron tratados con la dosis indicada de nicotinamida por 30 días. Cada valor se indica como el promedio ± S.E.M.; * vs los controles