

OPTIMIZACIÓN DEL TRATAMIENTO SISTÉMICO EN EL CÁNCER DE MAMA

Dr. José Mordoh *

Disertación realizada el 31 de julio de 2003

Transcripción de la videgrabación de la conferencia

Rev Arg Mastol 2003; 22(76):223-245

En este momento el uso de los marcadores de pronóstico en cáncer de mama adyuvante está adquiriendo un rol muy importante porque la gran mayoría de las pacientes que son operadas de cáncer de mama reciben uno u otro tipo de tratamiento adyuvante. Entonces, hay mucha información que está saliendo, parte es información confirmatoria de ensayos clínicos *randomizados* muy grandes y otras son informaciones muy pequeñas, fragmentadas, introduciendo técnicas nuevas; entonces, me parece que es un momento muy bueno para tratar de discutir estos nuevos elementos y ver cómo se ubican dentro de lo que ya sabemos. Para hacer un pronóstico tranquilizador, digamos que se ubican bastante bien; es decir, que lo que sabemos todavía sigue siendo válido, y eso es un alivio para todos.

Vamos a dar algunas definiciones. Cuando uno habla de factores de pronóstico, esta expresión se utiliza para determinar la probabilidad estadística de recurrencia de la enfermedad o de muerte, independientemente de la terapia adicional que se utilice en esa paciente; los factores de pronóstico tienen esa connotación. Los factores de predicción, en cambio, se utilizan para determinar la probabilidad estadística de respuesta a una terapia específica, permitiendo la optimización de la respuesta para pacientes in-

dividuales. Hay factores, por supuesto, que pueden ser de predicción y de pronóstico; pero en la mayor parte de los casos tiene más peso una de las dos posibilidades.

Si nosotros vemos en las pacientes que son negativas para ganglios linfáticos, cuál es la frecuencia de la terapia adyuvante que se emplea, vemos que tenemos tres posibilidades (Tabla I). Hay una cuarta parte de las pacientes operadas, donde la conveniencia de hacer terapia adyuvante es escasa, y estas pacientes son generalmente las que tienen tumores de bajo riesgo, caracterizados ya sea por el tamaño tumoral (menos de 1 cm) o por la histología favorable, como los carcinomas ductales in situ, tubulares puros, papilares puros, medular o mucinoso típico; éstas son pacientes donde raramente se hace terapia adyuvante.

En el otro extremo tenemos las pacientes que muy probablemente van a recibir terapia adyuvante, y es otro cuarto de las pacientes. Estas pacientes están caracterizadas porque tienen tumores de más de 3 cm y tienen rasgos de pronóstico desfavorable; entonces, estas pacientes casi seguramente hacen terapia adyuvante.

Pero existe prácticamente la mitad de las pa-

* Investigador Superior del CONICET.
Jefe de Cancerología de la Fundación Leloir.

Tabla I

FRECUENCIA DE TERAPIA ADYUVANTE EN CÁNCER DE MAMA CON GANGLIOS NEGATIVOS DE ACUERDO A DIVERSOS CRITERIOS			
Variable	Terapia adyuvante		
	Improbable *	Posible	Probable
Porcentaje de pacientes	25	50	25
Pacientes por año	30.500	61.000	30.500
Tamaño tumoral (cm)	< 1	1-3	> 3
Porcentaje de recurrencia eventual	1-10	~ 30	> 50
Pacientes con terapia adyuvante	Pocas	Desconocido	Mayoría o todas

* La terapia tampoco es probable si el tumor es carcinoma ductal in situ, tubular puro, papilar o típicamente medular.

Tabla II

SOBREVIDA LIBRE DE ENFERMEDAD ACTUARIAL A 5 AÑOS SEGÚN EL TAMAÑO TUMORAL PARA PACIENTES CON GANGLIOS NEGATIVOS		
Tamaño tumoral (cm)	n	Sobrevida libre de enfermedad a 5 años (% ± desviación estándar)
1-2	2.014	79 ± 1
2-3	1.162	77 ± 1
3-4	536	72 ± 2
4-5	276	74 ± 3
5-6	134	72 ± 5
> 6	144	57 ± 5

Valores de la base de datos de San Antonio; mediana de seguimiento 3,8 años.

cientes que están en un nivel intermedio entre las dos, y es en este tipo de pacientes donde uno tiene que ver cuál es la utilidad de los distintos factores de pronóstico. El tamaño tumoral sigue siendo un factor de pronóstico fundamental (Tabla II). Por suerte nuestros antiguos maestros hacían las cosas muy bien y tenían muy buen ojo para elegir factores de pronóstico y esto se suma a la decantación del tiempo; pero nosotros vemos que el tamaño tumoral sigue siendo un factor de pronóstico muy importante. Los tumores pequeños tienen una sobrevida libre de enfermedad a 5 años del 80%. Esto va disminuyendo progresivamente, y los tumores de más de 6 cm tienen una sobrevida libre de enfermedad

a 5 años del 57%; entonces, el tamaño tumoral sigue siendo un factor de pronóstico avalado por muchísimas series.

El otro factor de pronóstico importante, que todos conocemos y que todos usamos, es la posibilidad de los ganglios linfáticos axilares. En la Figura 1 se ve con toda claridad que las pacientes sin ganglios linfáticos positivos, tienen una sobrevida libre de enfermedad a 10 años de alrededor del 70%, y esto va disminuyendo progresivamente; y las pacientes que tienen de 4 a 10 ganglios tienen solamente un 40% de probabilidad de sobrevida libre de enfermedad a 10 años. El número de ganglios linfáticos sigue

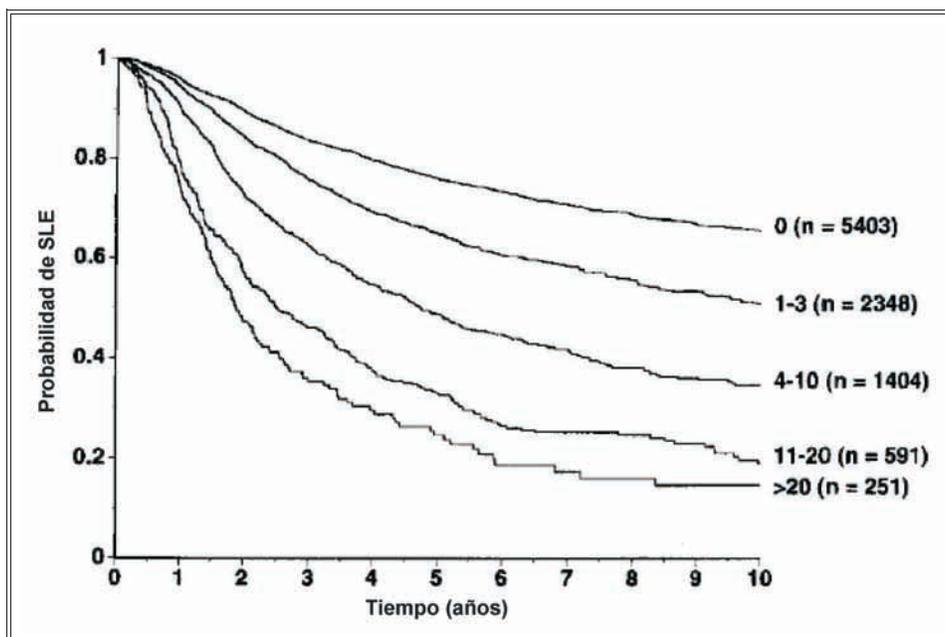


Figura 1. Probabilidad de supervivencia libre de enfermedad (SLE) según el número de ganglios linfáticos axilares positivos. Información de la base de datos de San Antonio; mediana de seguimiento 51 meses.

siendo un factor de pronóstico muy importante. Vamos a ver después que esto está avalado por procedimientos mucho más complejos.

¿Cuáles son los puntos claves del pronóstico tumoral? Yo traté de nombrar los elementos que uno debería tener en cuenta cuando se enfrenta a un caso en particular; o en la rutina diaria qué es lo que va a pedir y qué es lo que no va a pedir. Todos sabemos que en este momento es bueno, y además nos exigen, afilar el lápiz en todo lo que uno hace. Entonces, creo que es importante pensar cuáles son los puntos clave en los que hay que centrarse. Un punto clave confirmado es la capacidad replicadora y de reparación de la célula tumoral. Eso es una cosa que ayuda mucho a conocer cuál va a ser el pronóstico de esa paciente. El otro punto clave que hay que mirar (y estas son técnicas que vamos viendo más adelante), es cuál es el nivel de diferenciación tumoral. Eso ya lo hacen todos los patólogos y nos dan una clasificación bastante preci-

sa del nivel de diferenciación. Eso es muy importante porque todos sabemos que en cualquier tumor, a mayor diferenciación menor agresividad. Entonces, saber el nivel de diferenciación de un tumor, da un nivel de pronóstico muy importante. Los otros puntos son importantes, pero todavía sabemos menos y no podemos incorporarlos aún a la práctica diaria, aunque sabemos que son importantes; pero faltan todavía estudios definitivos al respecto. Esos dos puntos son la capacidad de invasión de las células tumorales y la capacidad de dar metástasis. Estos son los cuatro ejes que deberíamos tener presentes para evaluar qué vamos a hacer con una paciente recientemente diagnosticada con cáncer de mama.

Ahora vamos a referirnos al nivel de proliferación (Figura 2). Ustedes saben que las células normales o tumorales pueden estar en dos niveles diferentes. Pueden estar ciclando, o sea, recorriendo el ciclo celular, y el ciclo celular tiene

cuatro fases muy definidas. En la fase G0, están las células que no están ciclando, que en algunos tumores pueden ser el 10% y en otros tumores pueden ser el 90%. Por supuesto, cuando más células tengamos no ciclando, más diferenciado va a ser ese tumor, más lento va a crecer, mejor va a ser el pronóstico. Pero cuando una célula cicla (todos los tumores tienen células que ciclan; si no, no crecerían), esta célula puede atravesar cuatro etapas bien definidas, que se llaman G1 (la G viene de la palabra inglesa *gap* que quiere decir intervalo) porque eso pasa antes de que comience la síntesis de ADN. La síntesis de ADN por la cual la célula duplica su contenido en ADN se produce exclusivamente en la fase S. Cuando termina la síntesis de ADN, cuando la célula ha replicado sus cromosomas, viene la fase G2, que es una fase relativamente poco estudiada. Después en la fase M, es la mitosis, se separan las cromátidas sintetizadas, se forman dos células hijas y el proceso sigue adelante.

Se intuye desde hace mucho que medir el nivel de proliferación es importante y hubo varias técnicas que se utilizaron, alguna de ellas muy engorrosas. Yo recuerdo que en una época usábamos la marcación con timidina tritiada para medir el nivel de replicación; la timidina tritiada es un precursor del ADN que se incorpora en la fase S, pero este método tenía el inconveniente de que era bastante complicado, había que trabajar con el tumor in vivo. A los patólogos no les gustaba desprenderse, con toda razón, de una parte importante del tumor primario; además, la timidina se agregaba desde afuera; en fin, era técnicamente complicado. Había que hacer un proceso de autorradiografía después; llevaba unos 15 días para revelar, era una complicación.

Con la llegada de los anticuerpos monoclonales se resolvió bastante este problema y en este momento lo más sensato es usar anticuerpos que detectan proteínas específicas de las células que están ciclando. Uno de los más utilizados

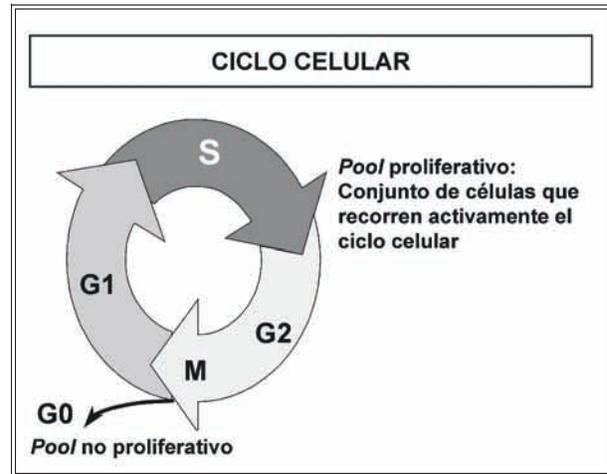


Figura 2.

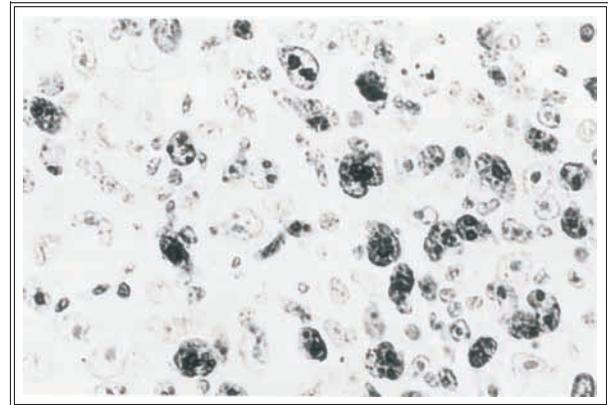


Figura 3. Linfoma inmunoblástico humano de alto grado a células B. Tinción inmunohistoquímica para antígeno Ki67 usando NCL-Ki67-MN1. Nótese intenso teñido nuclear en células B en proliferación. Sección de parafina.

en este momento es un anticuerpo que se llama Ki67. Es un anticuerpo que reconoce proteínas que sólo se producen cuando la célula cicla. Es una forma mucho más simple de que el patólogo mire en un tumor determinado cuántas células están ciclando. Cuantas más células ciclan, más indiferenciado el tumor, peor el pronóstico.

La Figura 3 muestra el aspecto de la marcación de Ki67. Como en la mayor parte de las reacciones que usan anticuerpos el resultado po-

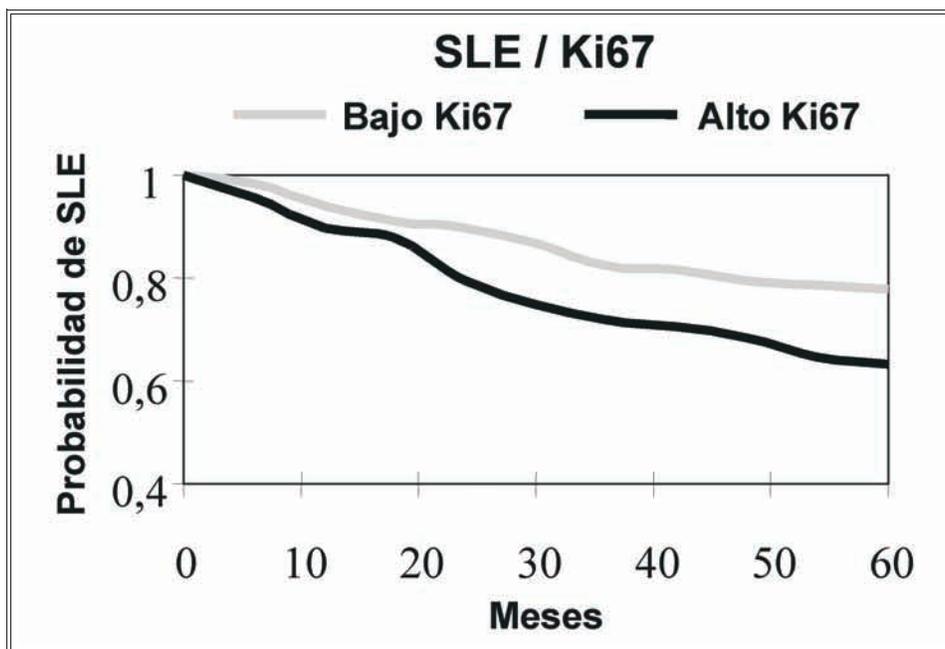


Figura 4. Curvas de supervivencia de 674 pacientes ganglios negativos de las cuales el 23,1 recibió hormonoterapia y/o quimioterapia.

sitivo se detecta por un color marrón en las células positivas. En este tumor la gran mayoría de los núcleos son marrones, hay muy pocos núcleos azules; o sea, hay células que no están ciclando y otras que lo están haciendo. Es una forma rápida y conveniente de ver cuál es la tasa de replicación del tumor.

En series que se publicaron sobre casi 700 pacientes, donde se estudió la supervivencia libre de enfermedad a 5 años (Figura 4), se ve que las pacientes con un porcentaje menor de Ki67 tienen un pronóstico más favorable que las pacientes con un alto nivel de Ki67; o sea, con una alta tasa de replicación.

Como detalle curioso y para enfatizar dónde está el control de la célula, van a ver que de los cuatro marcadores de los que vamos a hablar más en detalle, tres de ellos están localizados en el núcleo de la célula.

El otro factor de pronóstico que se ha utiliza-

do durante mucho tiempo, aunque en realidad tiene más valor de predicción que de pronóstico, es la presencia en el cáncer de mama de receptores de estrógeno y de progesterona. Éste es un tema que se viene tratando desde la década del 70. Era una técnica básicamente bioquímica, porque todos o la mayoría de ustedes debe acordarse cuando se determinaban los receptores de estrógenos por la técnica bioquímica, o sea, poniendo estradiol tritiado y mirando cuánto receptor había; para eso había que hacer un machacado del tumor, transportarlo con hielo seco, era todo un proceso bastante complejo. Pero ya se sabía entonces y se ha confirmado ahora, que la presencia sobre todo de receptores de estrógeno tiene un valor de predicción y de pronóstico importante; y esto usando las técnicas más modernas que vamos a ver luego.

¿Por qué tienen un valor tan importante?, y qué es lo que hoy se sabe sobre el rol de los receptores de estrógeno, que dicho sea de paso, se conoce bastante más que de los receptores de

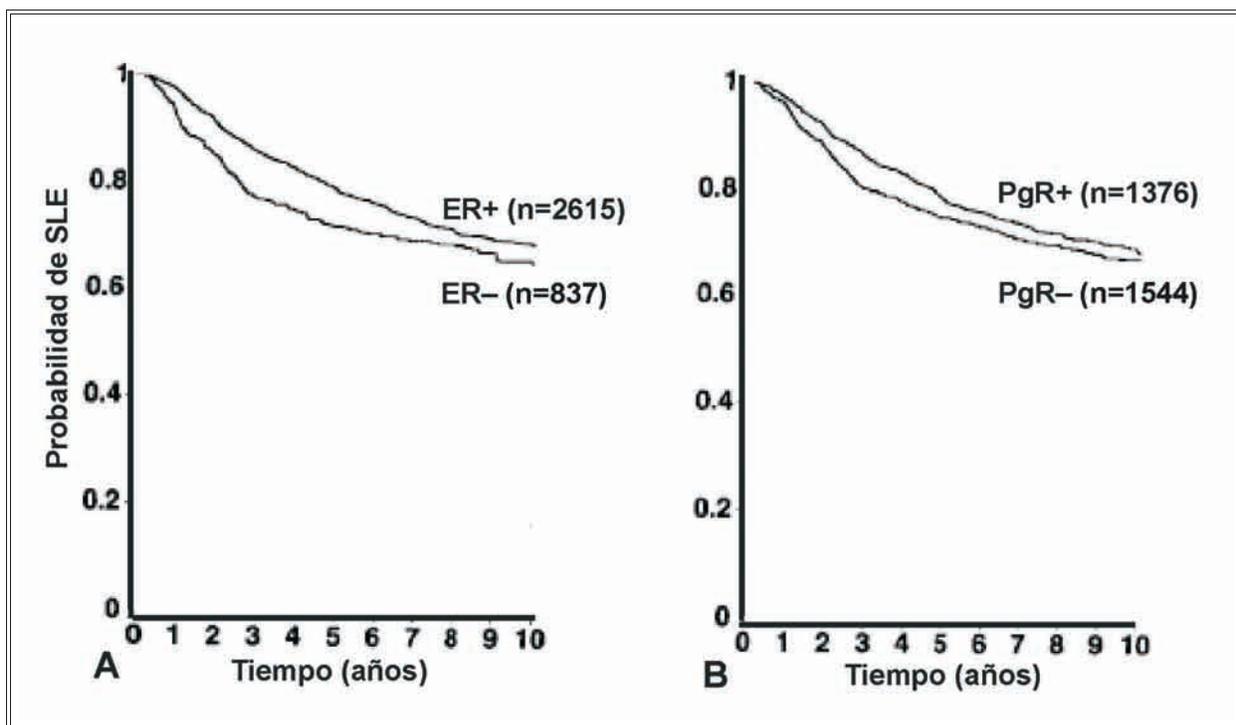


Figura 5. Sobrevida libre de enfermedad (SLE) según el estado del receptor de estrógeno (ER) (A) y de progesterona (PR) (B). Información de la base de datos de San Antonio; mediana de seguimiento 62 meses. Los riesgos relativos de recurrencia fueron los siguientes (el 95% del intervalo de confianza está entre paréntesis): para ER negativo 1,31 (1,12 a 1,53), $p = 0,0008$; para PR negativo 1,17 (1,00 a 1,37) $p = 0,04$.

progesterona. Intervienen muy activamente en la regulación del ciclo celular, aumentando la proliferación, disminuyendo la apoptosis e interviniendo en la organización del citoesqueleto de la célula y en la transducción de señales. Pero básicamente quedémonos con el primer ítem, aumenta la proliferación y baja el nivel de apoptosis de la célula tumoral; esto es, permite que las células sigan vivas y no entren hacia el camino de la apoptosis que las lleva a la muerte celular.

Como dijimos anteriormente, la presencia de receptores de estrógeno en el cáncer de mama predice una supervivencia libre de enfermedad mejorada, aunque no a niveles muy importantes, pero es un factor de pronóstico en ese sentido y sobre todo es un factor de predicción fundamen-

tal para determinar la respuesta a la terapia endocrina, de la cual el tamoxifeno es la más utilizada.

Cuando miramos cuál es el valor de pronóstico de los receptores de estrógeno, vemos lo que dijimos anteriormente, no es demasiado importante; es significativo pero no es muy importante. Si tomamos la supervivencia libre de enfermedad (esto está tomado de la base de datos de San Antonio, Tejas, que tiene una base muy importante de datos sobre cáncer de mama) ustedes pueden ver que las pacientes receptor positivo se comportan mejor que las pacientes que son negativas para receptores de estrógeno (Figura 5). La diferencia es lo que le da el valor de pronóstico a esto, es importante pero no es muy grande. Lo mismo, pero a menor escala, para

Tabla III

REDUCCIÓN RELATIVA EN RECURRENCIA Y MORTALIDAD ASOCIADAS CON TERAPIA ADYUVANTE CON TAMOXIFENO (CUALQUIER DURACIÓN) SEGÚN EL ESTADO DE LOS ER Y PR			
	n	Reducción de recurrencia (%)	Reducción de mortalidad (%)
ER + / PR +	7.000	37 (± 6)	16 (± 8)
ER + / PR-	2.000	32 (± 12)	18 (± 14)
ER- / PR +	602	23 (± 24)	9 (± 28)
ER- / PR-	2.000	1 (± 14)	1 (± 14)

ER, receptor de estrógeno. PR, receptor de progesterona.
Los valores entre paréntesis corresponden al 95% de los intervalos de confianza.

Tabla IV

DATOS ACUMULADOS SOBRE RESPUESTA A TERAPIA ENDOCRINA SEGÚN EL ESTADO DEL RECEPTOR DE ESTRÓGENO		
Tratamiento	Receptor de estrógeno (respondedores/total) - positivo	Receptor de estrógeno (respondedores/total) - negativo
Ablativo	59/107 (55%)	8/94 (8%)
Adrenalectomía	32/66	4/33
Ooforectomía	25/33	4/53
Hipofisectomía	2/8	0/8
Aditivo	51/85 (60%)	7/82 (8%)
Andrógenos	12/26	2/24
Estrógenos	37/57	5/58
Glucocorticoides	2/2	—
Antiestrógenos	8/20 (40%)	5/27 (18%)

Nota: Respuesta definida como una reducción del 50% en el tamaño o la curación de lesiones óseas líticas.

con los receptores positivos o negativos de progesterona, tiene un valor de pronóstico que está, pero no es muy importante.

En la Tabla III se puede ver cuál es la influencia de estos factores en la reducción, tanto en la tasa de recurrencia como en la mortalidad. Entonces se puede ver que las pacientes que son positivas, cuyo tumor es positivo para ambos receptores, tienen una reducción muy importante en la recurrencia y en la mortalidad (aunque menos). Las pacientes que son positivas para receptor de estrógeno y negativas para receptor de

progesterona, tienen una importante reducción (aunque menor), no hay diferencia en la mortalidad. Las pacientes que son positivas (pocas) para receptor de progesterona, bajan ambos índices. Las pacientes que son negativas, realmente son las que tienen el peor pronóstico.

El valor de predicción de la presencia de receptor de estrógeno, es sabido. Éstos son datos muy antiguos, que se mantienen hoy, de McGuire y col. (Tabla IV). Acá se puede ver que las pacientes que son positivas para receptores de estrógeno, responden entre un 50% y un 60%; y

Tabla V

RELACIÓN ENTRE EL NIVEL DE RECEPTORES DE ESTRÓGENO Y DE PROGESTERONA Y EL BENEFICIO CLÍNICO DE LA TERAPIA HORMONAL EN ENFERMEDAD AVANZADA			
Nivel de receptor de estrógeno por ensayo de unión al ligando (fmol/mg)	n	Porcentaje de respuesta (%)	
< 3,0	22	5	
3,0-10,0	76	18	
10,1-30,0	219	37	
30,1-300,0	63	78	
> 300,0	35	77	
TOTAL	415		
Nivel de receptor de progesterona por análisis inmunohistoquímico	n	Porcentaje de respuesta (%)	Tiempo hasta el fracaso del tratamiento (meses)
Negativo	69	46	5
Intermedio	78	55	7
Alto	57	70	10
TOTAL	204		

las pacientes que son negativas para receptores de estrógeno, tienen una tasa de respuesta del 8% al 10% a diferentes procedimientos que tienden a disminuir la cantidad de estrógenos circulantes.

También existe una influencia (esto medido en un principio por la técnica antigua de la unión del ligando al receptor de estrógeno, y confirmado en series más recientes en las que se mide receptor de estrógeno por inmunohistoquímica), importante entre el contenido de receptores de estrógeno y la tasa de respuesta a las manipulaciones hormonales. En la Tabla V ustedes pueden ver que cuando no hay receptores de estrógeno hay un 5% de respuesta; cuando hay más de 300 fmol/mg de proteína (esta es la vieja nomenclatura) hay prácticamente un 80% de respuesta; o sea, hay una relación muy directa entre la cantidad de receptores y la tasa de respuesta a manipulaciones endocrinas. Con los receptores de progesterona, ustedes pueden ver que la diferencia es más difusa. Cuando es negativa para

receptores de progesterona, hay todavía un 46% de respuesta; si es alto para receptores, hay un 70% de respuesta. Pero lo que marca el paso acá, es la presencia o no de receptores de estrógeno.

El receptor de estrógeno cuando se lo mide con anticuerpos monoclonales, es una proteína de ubicación nuclear. Acá (Figura 6) ya tenemos el segundo caso de una proteína que está ubicada en el núcleo donde ejerce su función fisiológica. ¿Cuál es esta función; cuál es el mecanismo?, que está en plena revisión ahora de los receptores de estrógeno. Se sabe que en su visión más clásica (vamos a ver que hay algunas pequeñas variantes en este concepto clásico, lo que no le saca validez), el estradiol difunde por la membrana celular sin necesidad de un transportador y se une al receptor de estrógeno que está en cantidades muy pequeñas en el citoplasma. Cuando se produce la unión de este receptor de estrógeno con el estradiol, hay un proceso de translocación, o sea, esta proteína que está en

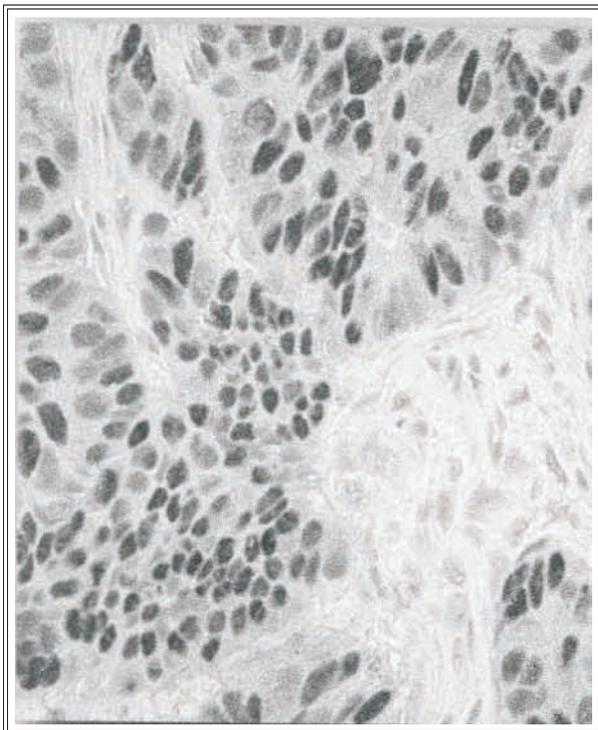


Figura 6. Carcinoma de mama teñido con anticuerpo receptor de estrógeno, código M707.

el citosol pasa por los poros del núcleo hacia el interior del núcleo. En el interior del núcleo este receptor de estrógeno forma homodímeros (o sea, se unen dos moléculas idénticas de receptor de estrógeno) y van a unirse a un sitio en determinados genes que se llaman ERE (estrogen responsive element). Son zonas del ADN que reconocen a este homodímero receptor de estrógeno-estradiol. Cuando se produce este reconocimiento con los ERE se van acumulando proteínas (en estos ERE) que lo que van a hacer es desencadenar la transcripción, o sea, la lectura de un número de genes que están a continuación de estos ERE. Entonces se van a producir las proteínas típicas que desencadenan la acción del estrógeno y que dependen de la presencia de los receptores de estrógeno.

Como todos ustedes saben el estradiol puede sintetizarse en el ovario básicamente, y efectúa su unión a albúminas o a proteínas transportado-

ras; después hay un porcentaje de este estradiol unido que se disocia, y esta es la forma de estradiol que va a penetrar en la célula y unirse al receptor de estrógeno. Parte de este estradiol es unido a determinados ácidos grasos y es transportado como una unión estradiol-lípido que se tiende a acumular en el tejido adiposo, donde también sufre un proceso de liberación lenta. Este estradiol libre es el que penetra en la célula para unirse al receptor de estrógeno.

Dos palabras solamente sobre dos conceptos nuevos (en los que no me voy a explayar mucho) simplemente para que los tengan en cuenta. Hay una forma clásica de activación del receptor de estrógeno donde depende de la unión del estradiol, como vimos anteriormente. Pero existen otras formas de activación que son menos frecuentes, y todavía no se sabe qué importancia tienen. No creo que sean demasiados importantes, pero pueden explicar algunos casos puntuales. Esto es la activación del receptor de estrógeno por factores de crecimiento independientes del estradiol. Estos factores de crecimiento pueden activar proteínas que están ubicadas en la membrana celular; estas proteínas, a su vez, por una cadena de fosforilación y desfosforilación pueden llegar a activar al receptor de estrógeno que entonces pasa al núcleo y se une al ERE, aunque no tenga el estradiol unido.

Finalmente, se ha encontrado recientemente que hay algunas moléculas de receptor de estrógeno en la membrana de la célula mirando hacia el exterior; unas estructuras que se llaman cavéolas, que son como unos pequeños pozuelos que hay en la superficie de la membrana. Este receptor de estrógeno se puede unir al estradiol directamente en la membrana plasmática y después desencadenar su efecto a través de una cascada de transducción de señales sin tener que llegar hasta el núcleo de la célula, como en la vía clásica. Pero digamos que esto equivale al mecanismo de acción más importante, por lo que sabemos hoy.

Como dijimos antes, el receptor de estrógeno actúa regulando el nivel de transcripción, o sea, de lectura de los genes que son respondedores al estradiol. En este momento, tal vez en los últimos 5 ó 6 años, uno de los elementos más importantes que ha surgido es que se ha encontrado que existen dos tipos de receptores de estrógeno, que se llaman α y β ; con el que nosotros siempre trabajábamos era con el α . El α es el más importante, el que tiene la acción en favor de la proliferación en la célula tumoral y es una molécula ligeramente más grande, tiene 595 aminoácidos, mientras que el receptor de estrógeno β es una molécula un poco más pequeña, sobre todo en el extremo amino-terminal que es una de las dos puntas de la molécula. Se sintetiza en un cromosoma distinto, o sea, son dos proteínas que están producidas por genes distintos y tienen distribuciones diferentes en distintos tejidos, tienen diferentes afinidades por los ligandos y se activan en general en forma distinta.

Mencionamos que los receptores de estrógeno cuando eran activados por el estradiol influyen no sólo en la tasa de proliferación de las células tumorales, sino también en su arquitectura. Esto se puede ver en una línea celular que se usa mucho en el laboratorio, que se llama MCF7 (viene de Michigan Cancer Foundation, que fue donde se la aisló). Cuando se crece en ausencia de estradiol, estas células toman un aspecto plano, con pocas microvellosidades en la superficie; son células que crecen muy lentamente. En cambio, cuando se les agrega estradiol estas células cambian su morfología, se ponen más redondeadas y hay numerosas microvellosidades en la superficie; es una célula que está creciendo rápidamente. Los estrógenos actúan no solamente aumentando la tasa de replicación, sino también modificando la arquitectura celular. No sabemos todavía qué importancia puede tener esto en los procesos de invasión y de metástasis.

En este momento cuál es el concepto, que las interacciones estradiol-receptor de estrógeno

tienen varios compartimentos. Por una parte están los ligandos, que pueden ser naturales, sintéticos o suministrados por el medio ambiente, como los fitoestrógenos. Existen los receptores hormonales que tienen diversos subtipos, diversas isoformas y diversas variantes de *splicing* (esto lo van a encontrar en algunos trabajos), esto lo que quiere decir simplemente o complejamente, pero vamos a hacerlo simple, es que a partir de un mismo gen pueden sintetizarse proteínas distintas. Eso es lo que pasa, por ejemplo, con el gen que codifica para receptor de progesterona. Hay dos formas de receptor de progesterona, A y B, y las dos son producidas por el mismo gen, por un fenómeno que se llama *splicing*. En cambio, los receptores de progesterona α y β , son producidos por dos cromosomas distintos, por dos genes diferentes.

Después están los efectores, y estos son ya elementos que están ubicados en el núcleo y en los ERE, en la zona de los genes que pueden activarse por el estradiol y que forman un conjunto de proteínas que se fijan en esa parte inicial del gen, que es lo que va a posibilitar la lectura de ese gen. Por último, está el efecto final que es la lectura de ese gen y la síntesis de proteínas específicas. Sobre todos estos factores, hoy en día se está trabajando mucho y se está aprendiendo bastante.

¿Cuál es la función aceptada en este momento para el receptor de estrógeno β ? Se piensa que tira para abajo la acción del α ; o sea, que es un antimitogénico, que si bien puede tener alguna superposición en algunos tejidos, activa genes diferentes, pero en general parecería que su alta expresión tiende a disminuir la capacidad de proliferación de los tejidos.

En este momento toda la complejidad que se está encontrando sobre la acción del receptor de estrógeno de los agonistas y de los antagonistas, ha llevado a la definición de los SERM. Todos ustedes saben que los SERM son las siglas de

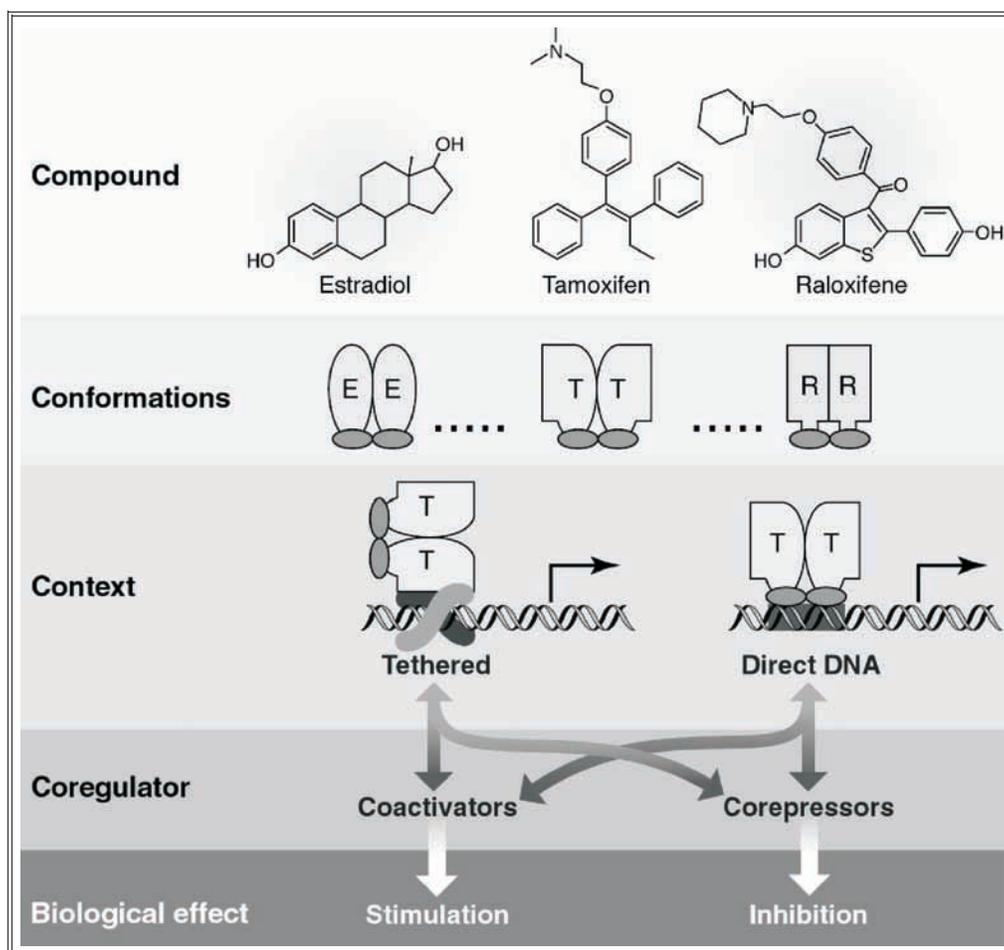


Figura 7. Acción de los SERM.

"selected estrogen receptor modulator", y es un conjunto de moléculas de las cuales las más conocidas son el tamoxifeno y el raloxifeno, que actúan en forma diferente sobre diferentes genes que responden al estradiol, de acuerdo a los tejidos en que se encuentran. Así por ejemplo, se sabe, para simplificar, que el tamoxifeno tiene una acción antagonista sobre la mama, pero tiene una acción agonista sobre el útero. Entonces, de acuerdo al tejido, una misma molécula puede ejercer funciones diferentes.

Esto ha llevado a un comentario muy interesante de Katzenellenbogen (Figura 7), es una mujer que ha trabajado mucho en receptores de

estrógeno, y todo obedece al mismo concepto. Lo que se piensa hoy en día es que tanto el estradiol, el tamoxifeno (ésta es la estructura de la molécula), como el raloxifeno, se unen a la misma molécula, al homodímero del receptor de estrógeno, y esto es de acuerdo a los tejidos de que se trate y de acuerdo a la cantidad de moléculas que intervengan en los ERE (estrogen responsive element). Todo este conjunto va a determinar que una misma molécula pueda actuar en forma inhibitoria o estimuladora, de acuerdo al tejido de que estemos hablando.

El receptor de progesterona vimos que tiene un valor de pronóstico menos importante que el

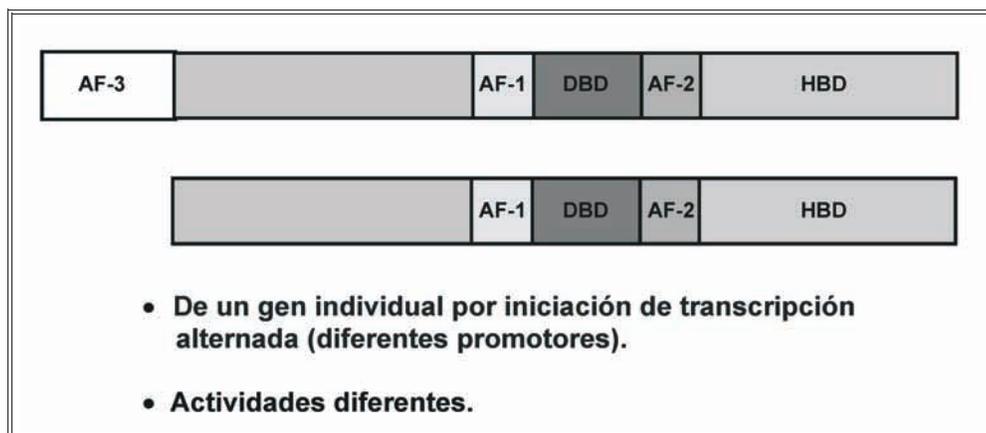


Figura 8. Receptor de progesterona humano: formas A y B.

receptor de estrógeno y también un valor de predicción para la respuesta a la terapia hormonal que es menor.

Los progestágenos y antiprogestágenos, ustedes los conocen perfectamente bien. La Figura 8 muestra la estructura del receptor de progesterona; hay dos moléculas más importantes: la forma B y la forma A. Nuevamente, las moléculas son distintas por tamaño, pero (como dijimos antes) a diferencia del receptor de estrógeno, éstas se producen en el mismo gen; entonces, estas moléculas son distintas por el fenómeno famoso de *splicing*, del que hablamos antes. Se unen en forma diferente los distintos fragmentos del gen; en un caso dan una molécula más larga (el receptor B), y en otro caso dan una molécula más corta (el receptor A); tienen actividades diferentes. Se piensa, acá también, que generalmente el receptor B está en cantidades mayores que el receptor de progesterona A, y que a diferencia de lo que pasaba con el receptor de estrógeno β con respecto al α , el receptor A podría actuar como represor del receptor B y de la señalización por receptores de estrógeno. Ambos receptores pueden encontrarse en niveles diferentes en cáncer de mama, aunque todavía no se sabe bien cuál es la función y a los fines prácticos no hay datos firmes para incorporarlo en la rutina en la práctica diaria.

La biología de los estrógenos y de los progestágenos está determinada por: la estructura del ligando, como dijimos antes; por el subtipo de los receptores de estrógeno α o β ; de los receptores de progesterona A o B; por la presencia de los ERE, de las zonas que distinguen que un determinado gen responda o no a una de estas combinaciones; y finalmente, por un balance de coactivadores y correpresores que todavía conocemos bastante mal, pero que pueden determinar, por ejemplo, que una paciente que es sensible al principio al tamoxifeno (lo que quiere decir que el tamoxifeno está actuando como un antagonista), se vuelva de golpe resistente al tamoxifeno (lo que quiere decir que la misma molécula pasó a actuar como agonista y no como antagonista). Hay una cantidad muy compleja de factores que todavía no conocemos del todo. Hay que tener en cuenta que muchos de estos datos son de los últimos pocos años; entonces, todavía hay que procesarlos bastante.

Como conclusiones, los estrógenos y los progestágenos actúan a través de los receptores de estrógeno que tienen dos formas y de los de progesterona que también tienen dos formas. Los ligandos pueden ser agonistas o antagonistas y esto en una misma molécula, eso es lo que los define como SERM; y finalmente que diferentes ligandos pueden inducir diferentes conformacio-

Tabla VI

CORRELACIÓN DE LA FRACCIÓN DE FASE S CON OTROS FACTORES DE PRONÓSTICO				
	Tumores diploides e intermedios		Tumores aneuploides	
	n	Mediana de fracción de fase S	n	Mediana de fracción de fase S
Receptores esteroides				
ER + / PR +	37.173	3,1	23.289	6,5
ER + / PR -	14.107	3,7	12.492	11,4
ER - / PR +	1.712	3,9	1.756	13,0
ER - / PR -	6.175	5,1	9.560	15,3
Ganglios positivos				
0	6.611	3,2	4.686	10,0
1-3	2.043	3,8	1.898	10,7
4-10	927	4,0	1.076	10,8
> 10	475	4,4	583	11,6
Tamaño del tumor (cm)				
1	1.734	3,1	827	8,1
1-2	4.448	3,2	3.159	9,7
2-5	3.640	3,8	3.990	11,2
> 5	531	3,9	614	12,2
Edad (años)				
< 35	280	4,9	305	14,4
35-65	5.864	3,6	5.260	11,4
> 65	5.248	3,2	3.631	8,8

ER, receptor de estrógeno. PR, receptor de progesterona.

nes de los receptores y cambiar el resultado final de la estimulación o de la inhibición.

Hasta ahora vimos dos factores de pronóstico importantes que son el índice de proliferación y la presencia de receptores de estrógeno en mama. La Tabla VI me pareció que es importante, porque muestra cómo el nivel de diferenciación es el que realmente importa para determinar el nivel de proliferación. Si ustedes miran los extremos de la tabla van a ver que en los tumores que son positivos para ambos receptores, el índice de proliferación mediano es de 6,5% (que es más o menos bajo); o sea, que cada 100 células hay 6 que están ciclando. En los tumores que son positivos para ER pero negativos para PR, ya

hay un salto, pasa de 6,5% a 11,0% (casi el doble). En los que son negativos para ER ya se dispara y pasa a un 13% o a un 15% los que son negativos para ambos receptores. Es decir, que los tumores más diferenciados y con menor tasa de replicación, son los ER+, PR+; y en el otro extremo están los ER-, PR-. Quiere decir que ambos factores están íntimamente ligados, porque estamos viendo como las dos puntas de una pirámide, digamos. Cuando vemos la parte indiferenciada, la vemos por un mayor índice de proliferación y por una ausencia de receptores hormonales. Fíjense ustedes que cuando miramos otros parámetros como los ganglios positivos, el tamaño tumoral o la edad de la paciente, los cambios en la tasa de proliferación son

mucho menores. Esto es lógico, porque un tumor no va a proliferar más o menos porque tenga más o menos ganglios, por el tamaño tumoral (que probablemente es un problema de tiempo de evolución del tumor), o por la edad de la paciente. El verdadero factor que determina la diferenciación o indiferenciación, hasta hoy, de los tumores mamarios (el más importante) son los receptores hormonales.

Ahora vamos a pasar a otro de los factores de pronóstico; pero este es un factor que no está todavía muy bien asentado en la práctica diaria. Yo creo que la información es todavía bastante confusa a pesar de la importancia de esta molécula. Estoy hablando de la molécula p53. En la célula tumoral, como en todas las células (pero en la tumoral hay alteraciones de esto), hay como en un automóvil, un sistema de aceleradores y de frenos. Los aceleradores en las células son unos genes que se llaman oncogenes, y los frenos son genes que se llaman genes supresores. Entonces, una célula normal puede transformarse en una célula tumoral, o porque está con el acelerador muy a fondo (eso quiere decir que tiene una activación de los oncogenes), o porque se quedó sin líquido de frenos (eso quiere decir que los genes supresores no andan); esas son las dos grandes causas genéticas por la que una célula normal se transforma en tumoral. En los tumores líquidos (en las leucemias, en los linfomas) lo más importante son los oncogenes. Las alteraciones de los oncogenes son las que determinan la transformación neoplásica de una célula. En los tumores sólidos (como el cáncer de mama) la alteración más importante proviene de pérdidas en el líquido de freno; o sea, hay genes supresores que no funcionan más. De los genes supresores, uno de los más importantes (el que está más comúnmente alterado en prácticamente el 50% de los tumores) es la proteína p53.

¿Esto por qué pasa? Porque esta proteína p53 sufre muchas mutaciones. ¿Y cuál es la función de esta proteína p53?, que se la llama en térmi-

nos de seguridad policía del genoma. Porque es una proteína que por mecanismos que todavía no se conocen bien, detecta rápidamente alteraciones en el ADN que se ha sintetizado. Si ese ADN está bien la p53 levanta la barrera, y la célula pasa por todas las fases del ciclo, llega a la mitosis y hay dos células hijas. Si esa proteína p53 está bien y hay una falla en la síntesis del ADN, es decir hay una equivocación en la replicación, hay un gen que se replicó mal; entonces, esa p53 puede detectar esa falla en el ADN y entonces para inmediatamente toda la síntesis del ADN, y le dice a la célula "hay que elegir, o arreglas el ADN o te vas a la apoptosis", que es decir a la muerte. Esto es lo que hace esta proteína p53. Cuando hay un daño en el ADN, la p53 normal va a la reparación (que la célula tiene mecanismos muy abundantes para arreglar el ADN que está dañado); y si no lo puede arreglar porque es un daño muy grande, manda la célula a la apoptosis, o sea, a la muerte. Esta p53 es una proteína muy crítica y como toda proteína crítica está presente en cantidades muy pequeñas en la célula. Cuando uno usa anticuerpos monoclonales para verla, no la ve porque es una proteína que está sintetizándose y degradándose muy rápidamente todo el tiempo. Pero cuando hay una mutación en esta proteína p53 (o sea, cuando hay una mutación que es la que produce que esta proteína p53 esté mal) esta proteína empieza a acumularse en la célula. Se acumula pero no funciona, es como una acumulación inútil, pero nos permite detectarla con anticuerpos. Ya es el tercer factor de pronóstico que está localizado en el núcleo, que por algo es la llave de todo el devenir de la célula. Esta proteína p53 puede alterarse sobre todo por mutaciones que ocurren en su parte central. No nos vamos a detener en esto (a veces es importante en los tumores hereditarios determinar dónde está la mutación) porque es un tema que no le hace al cuadro grueso de esta charla.

La Figura 9 muestra el ciclo celular observado por citometría de flujo; es una técnica que se

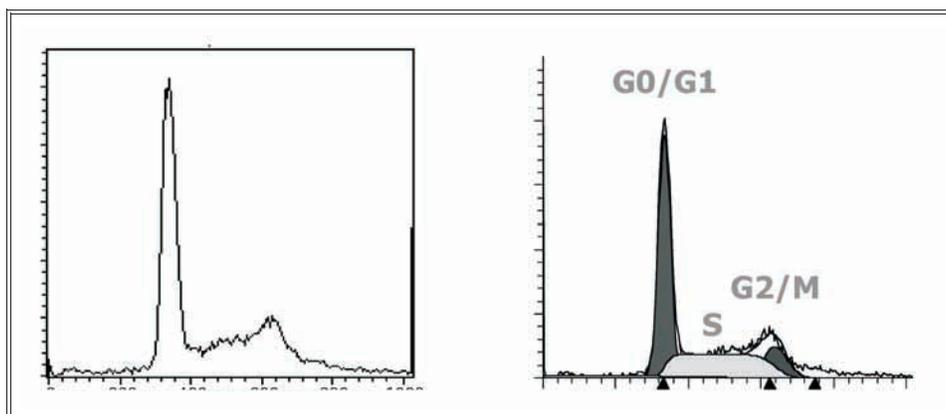


Figura 9. Análisis del contenido de ADN con un citómetro de flujo.

usa muchísimo para tumores líquidos porque es muy fácil, porque no es una punción de médula o le saca sangre a un paciente y ya las células están sueltas. Es mucho más difícil en los tumores sólidos porque hay que disgregarlos, hay que separar los núcleos; no se usa en la práctica. Pero no importa, yo lo traje para ver lo que hace la p53. Cuando ustedes pasan células por un citómetro de flujo y le dicen que le mida la cantidad de ADN a cada célula que pasa por un capilar, esto es lo que se ve. Se ve un pico alto y después unos pequeños picos más grandes (de más ADN), pero de menos altura. Cuando uno analiza más en detalle (que no vamos a ver ahora), se ven las células que no están ciclando y las células que están ciclando. Hay células que están en fase de síntesis ADN y hay células que están en G2 o que están en la mitosis. Después de la mitosis todas vuelven a engrosar el pico principal, que son 46 cromosomas en cada célula.

Cuando nosotros irradiamos una célula normal (o sea, hacemos un daño en el ADN por rayos), ¿qué es lo que pasa? Cuando una célula no está irradiada, una célula normal, tiene un esquema como el que vimos recién, células diploides, células que tienen el doble contenido de ADN, y éstas son las células que están en fase S. Cuando se irradia una célula normal la cantidad de células en fase S baja prácticamente a cero; o sea, que la p53 dijo "alto, acá nadie se divide

más hasta que yo lo digo", hasta que arregle el daño o hasta que vaya a la apoptosis. En cambio, cuando hay una célula mutante para p53, cuando no se irradia el aspecto es igual, pero cuando se irradia hay una cantidad de células que siguen replicándose; y esa replicación la lleva a acumular mutaciones (Figura 10).

En las mutaciones en la p53, ¿por qué la p53 no ha entrado de lleno en la práctica clínica y no se le ha encontrado ningún factor de pronóstico ni de predicción muy importante? Yo creo que la respuesta es que no sabemos en el curso de la evolución de una paciente que va a tratarse, si las mutaciones en la p53 son buenas o son malas. Hay dos ejemplos que yo les puse para explicarme. Las mutaciones podrían ser favorables porque impiden la reparación del daño cuando hacemos un daño. Cuando irradiamos estamos haciendo un daño en las células tumorales, estamos haciendo cortes en el ADN y no queremos que se arregle eso; queremos que la célula tumoral muera. Es un ejemplo de que podría ser bueno que la p53 esté mutada. Por otra parte, ¿por qué podría ser malo que esté mutada? Porque si no eliminamos a las células tumorales con drogas, con tamoxifeno o con rayos, las mutaciones en la p53 van a permitir la permanencia y la agravación de las mutaciones que van a hacer más indiferenciado a ese tumor. Son como dos factores que nadie sabe todavía cuál es el que

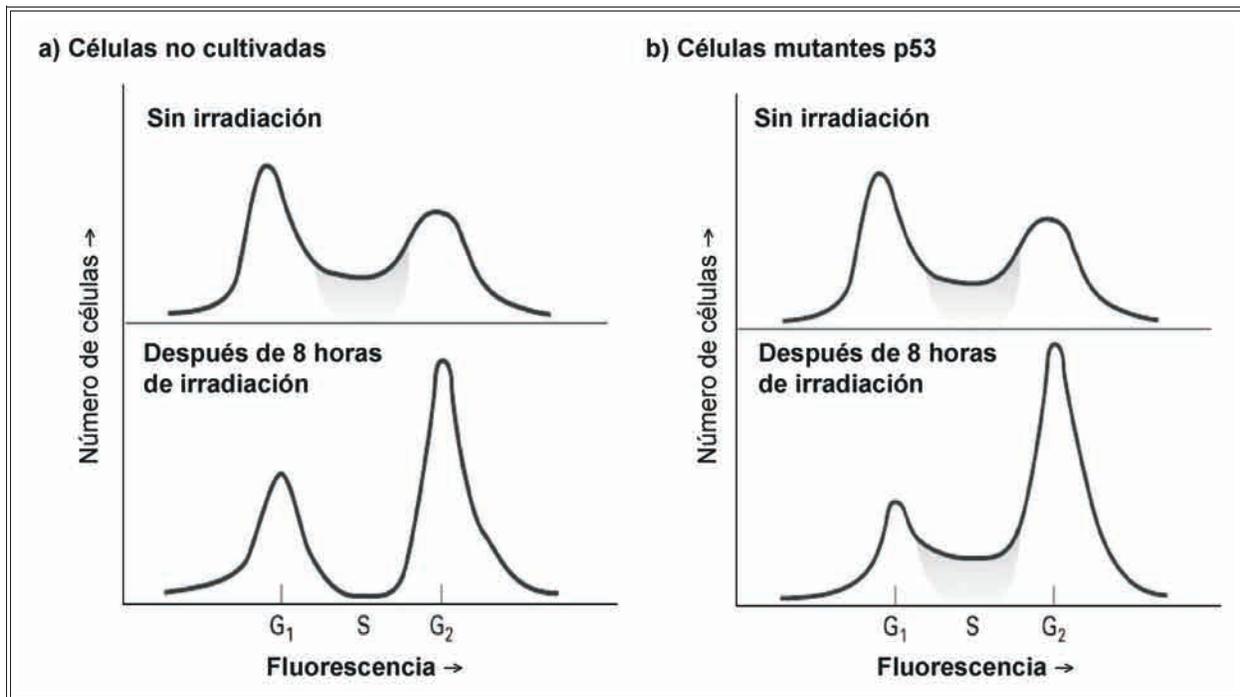


Figura 10. La interrupción de G₁ y G₂ en células con ADN dañado depende del supresor tumoral p53.

predomina.

Finalmente, no puedo dejar de mencionarles mutaciones en un oncogén que tiene un valor de predicción muy importante, y es el oncogén HER-2/neu; éste es un acelerador (ahora vamos del freno al acelerador). El oncogén HER-2/neu en la proteína normal es un receptor que está ubicado en la membrana de células epiteliales. Se encuentra en un 30% de los tumores de mama; se encuentra que esta proteína normal, este receptor (no se sabe de qué es, no se conoce cuál es el ligando) puede sufrir ciertas mutaciones que determinan que este receptor esté activado permanentemente, aunque el ligando, que no sabemos cuál es, no esté. Esto pasa por mutaciones o por amplificación de la proteína; o sea, cuando se produce más proteína que lo normal. Esta producción anormal de la proteína HER-2/neu en cantidades grandes se encuentra en la membrana de las células, no en el núcleo, porque este es un receptor de membrana. Pero se ha podido desarrollar un anticuerpo monoclo-

nal específico contra el HER-2/neu que se llama herceptín y que es una herramienta terapéutica adicional a la quimioterapia, que sólo puede ser usada cuando los tumores de mama expresan grandes cantidades de HER-2/neu. Este es un factor de predicción. El factor de pronóstico del HER-2/neu está todavía siendo analizado; pero seguro que es muy importante como factor de predicción para la respuesta a un anticuerpo monoclonal dirigido contra este receptor.

Yo no podía terminar esta charla sin dejar de mencionar (aunque sea dos palabras) sobre los ADN *arrays*, porque esto es un tema que está surgiendo con mucha fuerza (probablemente con más fuerza que cabeza), que va a ser importante dentro de algún tiempo. Por ahora es importante para investigación, dentro de un tiempo vamos a tener que usarlo todos en la clínica.

¿Qué son los ADN *arrays*? Son una forma de medir la expresión de genes; pero no de uno, dos o tres genes, sino de miles y miles de genes

en la célula. Ustedes saben que en la célula hay más o menos 30.000 genes, de los cuales no todos están activados al mismo tiempo. Evidentemente una célula mamaria no expresa los mismos genes que una neurona. Entonces, hay parte de esos genes que se expresan y parte que no. La ADN *arrays* es una metodología que nos permite medir prácticamente todos los genes de una célula al mismo tiempo.

Nosotros ya no estamos midiendo este gen aislado que está en una ventana o este otro gen aislado, sino que estamos midiendo la expresión de una gran cantidad de genes en toda la célula; o sea, miles. Los primeros ADN *arrays* se originaron en la década del 80, merced a una persona que trabajaba en computación. Para hacer los chips, se usan mucho las técnicas de las máscaras, las que permiten el pasaje de luz programado por computadoras sobre una pequeña placa de silicona. Programando eso (no vamos a entrar en los detalles, porque no viene al caso) se pudieron fabricar chips que contienen pequeños *probe* (el *probe* es un trozo de gen) en una superficie muy pequeña. Para ejemplificarles el nivel de sofisticación al que se ha llegado hoy en día, en el tamaño de una estampilla de correo común, uno pude tener un número tal de chips que nos permita medir todo el genoma humano, los 30.000 genes.

Aplicado a lo nuestro, digamos al cáncer de mama como a muchas otras cosas, lo que se hace es la hibridación, o sea, ponerle a esos chips ADN de tejidos normales, y éstos se marcan con una sonda fluorescente verde o ADN de células tumorales, y esto se marca con una sonda roja. Después se hace la hibridación sobre la estampilla de la sonda verde y la sonda roja, y después esto se lee con rayos láser. Pasa un rayo láser verde y da coloración verde; pasa un rayo láser rojo y da coloración roja. El verde quiere decir que son genes que se expresan en el tejido normal; el rojo quiere decir que son genes que se expresan en el tejido tumoral.

¿Qué pasa cuando un gen es expresado tanto en el normal como en tumoral? El pasaje de los dos rayos láser da un color amarillo. Entonces, cuando uno ve un color amarillo, quiere decir que es un gen que está expresado en el normal y en el tumoral; no nos interesa mucho. Cuando uno ve una mancha verde, está expresado en el normal; pero cuando uno ve una mancha roja solamente, quiere decir que es un gen que está expresado solamente en el tumoral.

Entonces, así se pueden hacer análisis muy importantes y muy recientemente (hace menos de un año), empezaron a aparecer trabajos sobre expresión usando la técnica de los ADN *arrays*, buscando en qué se diferencia la firma (y como firma entiendo la expresión de muchos genes) de un tumor de buen pronóstico de un tumor de mal pronóstico. A esto lo llamaron Van de Vijver y col., la firma de la expresión génica. Esta firma se hizo analizando 25.000 genes, estudiaron para esto unas 300 pacientes con cáncer de mama, y se quedaron con 70 genes que eran los que tenían una expresión diferencial; o sea, bajamos de los 25.000 a 70 genes. Usando estos 70 genes se pudieron diferenciar los tumores en tumores de buen pronóstico y de mal pronóstico.

Esto es simplemente para darles una idea de la complejidad del nivel de análisis al que uno puede llegar. Esto, por supuesto, es caro, es muy costoso; nosotros estamos usando algo más simple para otras cosas. Fíjense ustedes una cosa que es interesante, cuando miden los tumores que tienen una firma que puede definirse y ven una firma buena, es más prolongado el tiempo en que aparece la primera recaída que el del grupo con una firma mala; o sea, que hay una diferenciación que tiene un correlato biológico. Sin embargo, fíjense que cosa interesante, que es cuando miramos el porcentaje de las pacientes con firma buena y con firma mala que tienen metástasis en los ganglios axilares, el porcentaje es prácticamente igual; es decir, no hay diferencia en la firma buena y en la firma mala con

respecto al porcentaje de ganglios axilares. Pero cuando miramos las muertes, vemos que hay muy pocas (esto está analizado a 5 años), y en cambio en el grupo de mal pronóstico la mayor parte de las pacientes ha fallecido ya.

¿Cuál sería una de las conclusiones (tómela entre comillas) que empieza a arrojar este tipo de estudios? Que la capacidad de metástasis sistémica es independiente de la capacidad de metástasis a los ganglios axilares; y que finalmente, el pronóstico de la paciente está dado por la capacidad de invasión sistémica y no de invasión a los ganglios axilares. Es una de las conclusiones que se puede sacar de este tremendo estudio.

Entonces, para terminar, les quiero dar mis conclusiones, que están avaladas un poco por todos estos estudios, de lo que yo haría si tengo que determinar factores de pronóstico para una paciente con cáncer de mama. Evidentemente me seguiría basando en el tamaño; evidentemente me seguiría basando en el grado histológico; evidentemente me seguiría basando en la expresión positiva de los ganglios linfáticos; y evidentemente me seguiría basando en los receptores de estrógeno y de progesterona. Yo creo que menos que esto no se puede pedir, ni se puede aceptar. Éste sería el límite que yo pondría.

Como segunda línea (si estamos en un país más rico y donde no hay problemas), yo pediría el índice de proliferación; determinaría la p53; y determinaría la presencia de HER-2/neu. Pero digamos que el primero sería mi límite ético, si ustedes quieren llamarlo médico. Lo demás lo dejaría un poco más entre comillas, primero, porque sabemos que el índice de proliferación es inversamente proporcional a la cantidad de receptores; o sea, que si medimos los receptores y son altos, ya sabemos que índice de proliferación va a ser bajo. El de la p53, porque todavía no hay datos *randomizados*, no hay metaanálisis que indiquen que tiene un valor de pronóstico ni de predicción importante; probablemente sea

así, pero hasta que no estén los datos, no están. Y el HER-2/neu porque está relacionado probablemente con un factor de predicción cuando a la paciente se le va a hacer un tratamiento con herceptín. Como los tratamientos con herceptín no son de práctica corriente, son tremendamente caros, si uno va a hacer este tratamiento, siempre pude ir al taco y estudiarse la expresión positiva cuando llegamos a ese momento. Entonces, estos tres marcadores los dejaría como una segunda línea.

De todo lo otro que anda dando vueltas, esperemos a ver qué pasa en las conclusiones de los estudios. Les agradezco a todos.

DEBATE

Dr. Etkin: Escuchamos con mucha atención y felicitamos al Doctor, porque es más que obvio que fue excelente y apasionante para nosotros, tanto médicos cirujanos como asistenciales, escuchar una charla de un investigador del nivel del Dr. Mordoh. La pregunta puntual va a ir a lo siguiente. Nosotros utilizamos los antiestrógenos, en un momento, como estimulación prequirúrgica a la determinación de los receptores hormonales, en el momento de la operación. Sin despreciar o sin desdeñar la cuantía (y hablo de la época de la intervención por método bioquímico) en fmol/mg de proteína de cuánto estaba expresado el receptor estradiol, que no lo teníamos tan en cuenta; sí tomábamos como verdadero marcador de predicción la cuantía en fmol/mg para receptor de progesterona. El seguimiento que hicimos a casi 10 años nos dio un poco la razón, de que eran mucho más respondedoras a la terapia hormonal aquellas que tenían una sobreexpresión del receptor de progesterona; cosa que me pareció haber escuchado que no es tan así. Quisiera saber su opinión, respecto de esto.

Dr. Mordoh: Creo que el grueso (acá hay miles de pacientes que han sido analizadas) de la respuesta viene dado por la presencia del re-

ceptor de estrógeno. Creo que la presencia de progesterona ayuda a ese receptor. El circuito normal es receptor de estrógeno induce al de progesterona. Entonces, cuando el circuito está completo, evidentemente la respuesta sigue siendo mayor. Pero si uno toma aisladamente la presencia de receptor de estrógeno o de progesterona, responden más las pacientes con receptor de estrógeno solo que de progesterona solo, lo que estaría indicando que aisladamente serían más importantes los de estrógeno que los de progesterona para la respuesta.

Dr. Etkin: Yo quisiera agregar, que es importante a la pregunta que hice, que el objetivo primario nuestro en ese estudio, fue separar los que eran aquellos receptores funcionales de los no funcionales; es decir, separar a aquellas que tenían receptores presuntamente alterados de los que realmente eran funcionales. Con esa estimulación logramos, viendo la expresión del receptor de progesterona, como marcador de futuro valor de predicción a la respuesta a la terapia hormonal.

Dr. Mordoh: El método bioquímico tenía una ventaja y un inconveniente. La ventaja era que uno medía solamente lo que estaba en el citosol; raramente se extraía lo que estaba en el núcleo. Cuando uno le agrega un agonista como el tamoxifeno, no sabe cómo está desplazando ese equilibrio. Si uno pierde receptores que están unidos al núcleo, que es donde funciona realmente, a lo mejor mide menos en el citosol los funcionales. Se ha vuelto bastante complejo hoy en día con las dos formas del α y del β . Si le agregamos además un SERM como el tamoxifeno, yo creo que serían estudios que habría que volver a hacerlos ahora si uno pensara que es válido para tratar de ver qué es lo que uno está inhibiendo o no con el tamoxifeno. Me parece que la cuestión se ha complicado un poco en base a los conocimientos que se tenían hace 20 años.

Dra. Vico: Yo me adhiero a las palabras del

Dr. Etkin, cuando dijo que realmente hizo una exposición brillante de un tema que puede ser a veces difícil entender desde la medicina asistencial. Yo quería hacerle dos o tres preguntas sobre algunas consideraciones actuales que se están haciendo. Por ejemplo, se dice que las pacientes muy jóvenes que tienen receptores hormonales positivos, en este momento estarían entrando en un área donde no serían de tan buen pronóstico, como el que ocurre en las pacientes mayores, sobre todo mayores de 35 años; ésa es una pregunta. La segunda es, que usted habló de la necesidad del HER-2/neu como elemento que a nosotros nos autoriza a usar en la sobreexpresión de 3 cruces o en un Fish de 2 cruces en trastuzumab o en herceptín. Pero qué piensa usted cuando se comenta que si están sobreexpresando el C-erbB-2 no se debería usar la quimioterapia con esquema CMF, que realmente serían pacientes más respondedoras a las antraciclinas; y que hay distintos trabajos en la bibliografía que también dicen que si hay una sobreexpresión, una expresión del C-erbB-2, no serían respondedoras al antiestrógeno, al tamoxifeno, como si no estuviera éste presente. La tercera y termino, si esta técnica de los *macroarrays* nos pone en el camino para modificar en el futuro la clasificación de los carcinomas; de dejar de hablar del cáncer de mama, del cáncer de colon, y hablar de una clasificación genética de los cánceres.

Dr. Mordoh: Hay que tener en cuenta que habíamos mostrado que el receptor de estrógeno es el mediador del estradiol para aumentar la proliferación celular y disminuir la apoptosis. No parece extraño que en una paciente joven con grandes cantidades de estradiol circulante, la presencia de receptores de estrógeno tenga un valor de pronóstico distinto que en una paciente posmenopáusica, donde los receptores de estradiol son mucho menores. Así que me parece bastante lógico, inclusive. No conozco en este momento estudios, así en gran escala, sobre pacientes premenopáusicas. Están empezando a salir series más o menos grandes donde se mide

BRCA con receptor de estrógeno, pero hay que tener en cuenta que ahora se está usando, prácticamente en todo el mundo, inmunohistoquímica. Sólo muy recientemente se ha validado esta técnica como predicción de resultados clínicos (con datos todavía un poco raros, para mi gusto). Hay trabajos que dicen que pacientes con el 1% de células positivas para el receptor de estrógeno, responden a la terapia hormonal; cosa, que por lo que sabemos ahora, es bastante extraña. Yo creo que hay que esperar la validación en series grandes de este tipo de pacientes. Pero así como concepto lógico, no me parece raro. Si hay estradiol y hay receptores, y se sabe que son proliferantes, va a actuar; y va a actuar llevando a las células a una proliferación. En cambio, cuando no hay estradiol, esto pasa a ser como un marcador de diferenciación sin el peligro de la proliferación.

Yo creo que la ventaja de las antraciclinas sobre el CMF es pequeña, pero hay una ventaja demostrada. Lo que uno tiene que evaluar es, en pacientes jóvenes, si la toxicidad, la cardiotoxicidad de las antraciclinas, usándolas como primera línea, justifica esa diferencia. Ése es un criterio que me parece que está en revisión, porque hay una ventaja, pero no es una gran ventaja. Con respecto a si la presencia de HER-2/neu da un peor pronóstico, la respuesta es sí. No en metaanálisis, pero hay series que indican que el pronóstico de las pacientes que sobreexpresan HER-2/neu, es peor que el que no expresan. Inclusive hay algunas series de trabajos sobre *arrays* en cáncer de mama, donde definen una categoría especial, que es la de peor pronóstico de todas, que son las pacientes que tienen receptor de estrógeno negativo y HER-2/neu positivo. Está como dentro de las peores. Si uno mira en otros trabajos la presencia de HER-2/neu, es inversamente proporcional a la presencia de receptores. Entonces, es evidente que la sobreexpresión de HER-2/neu está indicando que hubo un daño genético, porque hay una amplificación de un gen; y esto seguramente va aparejado a la pérdida del

receptor, que no sabemos cómo, pero está aparejado. En cuanto a si la expresión del HER-2/neu determina que ya uno tenga que ir como primera línea a usar antraciclinas, yo no conozco todavía estudios *randomizados* que definan taxativamente eso. Pienso que es un tema que se está analizando. Es muy probable que sí; es muy probable que la tendencia sea en las pacientes con tumores más agresivos usar una terapia más agresiva de entrada, como sería el FEC, por ejemplo, en vez del CMF.

Su tercera pregunta de si se van a clasificar los tumores en una forma distinta, de acuerdo a la firma genética, probablemente sí; pero de hecho todavía no. Me parece que nosotros estamos en una situación, en cierto sentido, favorable, porque los trabajos que se están haciendo son terriblemente costosos, terriblemente laboriosos, y además, son todavía poco reproducibles los ADN *arrays*. Hay gente que está haciendo experiencias controladas con ADN *arrays* usando técnicas distintas, usando un *array* con las máscaras y otro con cADN (que es como una técnica distinta), pero los dos deberían dar igual y se obtienen resultados distintos en cuanto a la expresión. Se dan cuenta que son técnicas muy complejas, uno está midiendo 25.000 genes en un chip y la parte tecnológica es muy sutil todavía. Además, hay que tener en cuenta que en los tumores de mama cuando se hace un *array* saca todo el ADN; saca el ADN de los fibroblastos, de los linfocitos y de las células tumorales, haya poco o haya mucho; eso lo hibrida con un *array*. Entonces, la diferencia que se puede ver en un *array* entre una expresión muy alta y una expresión baja, es a lo mejor de 1,5 contra 1,0; es un 50% de incremento. Uno lo ve en el *array* y uno es un rojo intenso y el otro es verde. Yo todavía creo que estamos en una etapa donde uno mirando un preparado, puede leer más todavía, leer más inteligentemente qué está pasando con ese tumor; y creo que todavía estamos en una etapa donde tenemos que tomar las lecciones de los *arrays* para ir avanzando lentamente, pero yo

no me volcaría a conclusiones que se trasladen a la práctica. Creo que en la parte de investigación tiene todo el derecho (y si tiene la posibilidad) de ir investigando las series que uno quiere. Pero creo que en esto hay que trabajar con números grandes, con 100 pacientes o más, para hacer algo importante. Hay estudios que son de 300, 400 ó 600 pacientes. La historia de las 20 pacientes, desgraciadamente para nosotros, no tiene mucho valor ya, en vista de todo lo que está pasando. Creo que hay muchos trabajos sobre *arrays* en cáncer de mama, que hablan de que los cánceres de mama pueden clasificarse entre cánceres de células basales y de células luminales; hay que estar muy atento. Creo que las conclusiones, por ahora, siguen siendo que si medimos los marcadores que yo humildemente puse en el trabajo final, estamos midiendo lo mismo que si medimos los 25.000 genes de los cánceres de mama, por ahora. Va a llegar un momento que vamos a tener que incorporar otras cosas, pero hay que demostrarlo; por ahora no está demostrado.

Dr. Novelli: Cuando uno repasa mentalmente todo lo que aprendió a partir del conocimiento de los receptores, se da cuenta cuán simple era antes y cuán complejo se está volviendo. Y claro, desde el proceso de difusión pasiva, a la fijación intracitoplasmática, a la translocación del núcleo. Luego la segunda teoría del factor de crecimiento para la posibilidad de penetración del estrógeno en la célula; y ahora, esta tercera teoría que habla de un receptor de membrana. Yo me acuerdo que cuando uno decía receptores hormonales, decía hormonas peptídicas de membrana, citoplasmáticas receptores de nucleares. Es posible que el estrógeno, utilizando ese receptor de membrana, tenga necesidad de AMP cíclico, para interactuar. Si fuera así, eso no explicaría la actividad selectiva de los SERM con respecto a cada uno de los tejidos, respecto al receptor de membrana. Yendo un poco más allá, ya hablando no de los SERM, sino de los STEAR, de los receptores selectivos para tejido especí-

fico.

Dr. Mordoh: A mi me parece que cuando hablamos de selectividad de los receptores, generalmente (por lo menos el concepto actual) es que estamos hablando del receptor nuclear, porque ahí se da el juego de interacciones cualitativa y cuantitativamente más importantes a nivel de los ERE, ahí interaccionan los receptores α y β con los SERM. El receptor de membrana es todavía un poco misterioso, se piensa que actúa por una vía que no tiene que ver con la translocación nuclear, sino que activa una vía, como usted dijo muy bien, en la que interviene AMP cíclico, GMP cíclico y la vía de las *matkinasas*, que es una de las tantas vías que hacen un pasaje de la señal de la membrana al núcleo. Pero yo creo que es bastante misterioso todavía cuál es el rol cuantitativamente importante de los receptores que están en la membrana celular y cuánto tiempo están. De hecho, cuando uno hace inmunohistoquímica no los ve en la membrana; es más, no ve tampoco los del citosol. Son moléculas de *turnover* muy rápido, y yo creo que todavía no hay datos muy fuertes de la importancia cuantitativa de los dos. Pero es uno de los campos que está más abierto a la investigación.

Dr. Novelli: Yo leí en un trabajo que el receptor de estrógeno β tiene mucho más que ver con la metástasis axilar linfática que el receptor α . ¿Esto es cierto o no?

Dr. Mordoh: No conozco trabajos importantes de eso. Yo creo que la invasión linfática y la invasión sistémica venosa, tienen mecanismos distintos. Eso se ve mejor en otros tumores, que en mama. Pero evidentemente la invasión linfática tiene probablemente más que ver con procesos de metástasis por contigüidad; tenga en cuenta que los capilares linfáticos son fenestrados, no tienen membrana basal. Es mucho más fácil entrar en un vaso linfático que en un sanguíneo. Que el receptor β tenga que ver con eso, la verdad que no lo sé y no me acuerdo haberlo

leído. Sería muy interesante y posible, porque uno podría predecir a lo mejor midiendo el α y el β , cuál es la capacidad invasora de una célula tumoral. No lo sé, lo voy a buscar.

Dr. Lebrón: Antes que nada, me adhiero a las felicitaciones de los colegas que me precedieron, me pareció brillante la exposición. Nosotros siempre estábamos con la idea de que como factor de predicción iban a actuar mejor los antiestrógenos, cuando había receptores positivos para estradiol y para progesterona. Me pareció muy interesante lo que mostró, que fundamentalmente lo que importa sería la cantidad de receptores de estrógeno, y no tanto el de progesterona; eso creo que es un poco novedoso. Después, de la pregunta que le hizo la Dra. Vico, usted le contestó muy bien sobre el tema de la quimioterapia, pero no enfatizó tanto sobre el tema del tratamiento hormonal en la HER-2 positiva; pacientes con HER-2 positiva con receptores positivos. En el año 2001 (por ejemplo, en el ASCO de 2001), aparecieron varios trabajos que descalificaban directamente utilizar tratamiento hormonal adyuvante en esas pacientes. Después, eso no se confirmó; es un tema un tanto controversial. Me gustaría saber su opinión al respecto, si el HER-2 descalifica o no, o usted cree que tiene todavía algún lugar en la terapéutica el tratamiento hormonal.

Dr. Mordoh: En primer lugar hay que destacar que es la minoría de las pacientes. La mayor parte de las pacientes Her-2/neu son receptor negativo y viceversa; o sea, que todos los estudios son sobre poblaciones pequeñas. Yo no creo que descalifique tratar a una paciente con receptor de estrógeno positivo. De hecho, y sería muy interesante, habría que mirar en nuestras series. Eso sería un trabajo, por ejemplo, que se me ocurre que es simple de hacer y que es interesante. Si se pudiera rescatar los tacos, por ejemplo, de las pacientes posmenopáusicas con receptor de estrógeno positivo y que fallaron (el 40% de las pacientes); que no responden al tra-

tamiento. Eran HER-2/neu positivas. Eso se puede hacer; ese es un trabajo simple que puede contestar a lo mejor en un número de pacientes importante, cuál es esa pregunta; me parece excelente. Pero haciéndolo prospectivamente, se me ocurre que debe ser un trabajo difícil juntar un número de pacientes que dé un resultado importante. En cambio, yendo para atrás a lo mejor uno lo puede hacer más fácilmente.

Que la presencia del HER-2/neu impida el funcionamiento o la acción antiestrogénica del tamoxifeno en una paciente con mucho receptor, no lo creo; me parece que son vías distintas. Pero se puede hacer eso, sería interesante hacerlo.

Dr. Schejtman: Me adhiero a las felicitaciones de la charla. Nosotros ayer en la Escuela tuvimos una charla, también sobre biología molecular, donde nos introdujeron el concepto sobre que el ADN va cambiando a medida que el cáncer va avanzando; o sea, no es el mismo ADN cuando nosotros diagnosticamos el cáncer que en el cáncer que da metástasis o en el cáncer en los ganglios axilares. Dio como ejemplo que puede ser estrógeno negativo en un momento y estrógeno positivo en otro momento. Quería saber cuál es su opinión acerca de esta teoría, que creo que sería revolucionaria, y cuáles serían las indicaciones para la paciente. Si habría que volver a hacer receptores en los distintos estadios de la paciente.

Dr. Mordoh: De hecho esos son datos de hace 30 años. La expresión positiva en las metástasis refleja fielmente la expresión positiva en el primario; o sea, que el ADN va cambiando por mutaciones, eso es cierto. Ahora, no parece ser el caso en general de que se pierda la expresión positiva de receptores por la metástasis. De hecho, todas las series que hay que indicaban que uno medía receptores en una metástasis, se correspondían perfectamente bien con el primario, a lo mejor no tan cuantitativamente. Se usa-

ban métodos de unión al ligando, donde uno medía poblaciones en total normales y tumorales; o sea, que yo no creo que la mutación afecte tanto al receptor. De hecho, trabajos con ADN arrays donde se compararon no en muchas pacientes, pero en unas 30 de una serie de 300 pacientes; hubo pacientes que hicieron neoadyuvancia y entonces se hizo un ADN array del tumor antes y después de la quimioterapia, y se compararon también tumores primarios con tumores de metástasis en ganglios. Lo que se vio un poco sorprendentemente es que la expresión de los genes era bastante similar antes y después de quimioterapia. Era mucho más parecido entre el tumor primario y la metástasis, que entre dos pacientes distintas. O sea, que la firma genética de cada paciente tiende a mantenerse. En eso, me parece que tiene una influencia muy grande qué es lo que nosotros hacemos con esa paciente. Evidentemente, creo que no puede compararse a una paciente con cáncer de mama que está virgen de tratamiento, hace una metástasis y nosotros estudiamos el ADN de la metástasis con el

del primario, a una paciente que está en su cuarta línea de quimioterapia. La paciente que está en su cuarta línea de quimioterapia, evidentemente va a tener (y eso lo hemos visto nosotros) células mucho más indiferenciadas, más agresivas. Hay una mezcla ahí de evolución y del tratamiento. Pero cuando uno mira la evolución sola (en la medida que se pueda hacer) hay cambios, pero no son cambios dramáticos. Es mucho más grande la diferencia, como dije antes, entre dos tumores de dos personas distintas, que el tumor de una misma paciente antes y después de una quimioterapia adyuvante, o en el primario y en la metástasis. Hay series (tengo las referencias) muy importantes sobre ese punto. Dependen también de la mutación de la p53. Creo que a medida que sabemos más, es cada vez más difícil generalizar. Hay que estudiar qué se le hizo a esa persona, si la p53 está mutada o no, y entonces eso puede explicar mejor la diferencia de una paciente, que conceptos así muy generales, que por lo menos en cáncer de mama no parecen ser del todo ciertos.