

Resistencia a drogas en pacientes con cáncer de mama.

© Laura M. Vargas Roig y Daniel R. Ciocca 2000
vargasl@lab.cricyt.edu.ar

RESUMEN

El cáncer de mama sigue siendo una de las principales causas de muerte en la mujer. Uno de los tratamientos que se utiliza en la actualidad para combatir esta enfermedad es la quimioterapia. Lamentablemente en muchos casos esta terapia fracasa porque las células tumorales desarrollan múltiples mecanismos de resistencia a las drogas antitumorales. Existen diversos genes/proteínas que cuando se expresan anormalmente en los tumores impiden que las drogas antitumorales cumplan su función. Entre las proteínas relacionadas con resistencia a drogas antineoplásicas figuran la proteína P170, la proteína HER-2/neu y las proteínas de golpe de calor. Nuestro grupo de trabajo estudia diversas moléculas que se expresan en los tumores de mama y que podrían predecir la sensibilidad/resistencia a la quimioterapia. El objetivo es poder orientar a los oncólogos en la selección de las terapias más efectivas para cada paciente.

ABSTRACT

Breast cancer is one of the principal causes of death in women. Chemotherapy is one of the effective treatments used in breast cancer patients. However, in several cases chemotherapy fails because tumor cells may develop several mechanisms of antitumor drug resistance. There are different genes/proteins that, when abnormally expressed in the tumors, prevent the function of the antitumor drugs. Among the proteins related with chemotherapy resistance is the proteins P170, HER-2/neu, and heat shock. Our research group is studying molecules expressed in breast tumors that can be associated with sensitivity/resistance to chemotherapy.

The objective is to help oncologists in the selection of the more effective chemotherapies to individual breast cancer patients.

El cáncer de mama es una de las principales causas de muerte en la mujer, especialmente en los países industrializados. El tratamiento que se debe realizar depende fundamentalmente del estadio de la enfermedad (tamaño del tumor, compromiso de ganglios linfáticos, metástasis, etc.) en el momento en que se realiza el diagnóstico. Es importante destacar que cuanto antes se diagnostique el tumor, existen más probabilidades de que pueda ser curado, de allí la importancia de realizar controles periódicos (autoexamen, mamografía, etc.) para detectar esta enfermedad de manera precoz.

Uno de los tratamientos que actualmente se utiliza es la quimioterapia, que consiste generalmente en la administración de varias drogas por vía sistémica (a través de la sangre) con la finalidad de matar a las células que se están dividiendo con más rapidez (entre las que se encuentran las células tumorales). Cuando el cáncer de mama está localmente avanzado (el tumor supera los 3 cm) se suele hacer quimioterapia neoadyuvante, es decir que se administran las drogas antes de realizar la cirugía, para disminuir el tamaño del tumor y lograr luego una mejor resección quirúrgica; este tratamiento ataca también las células tumorales que podrían estar escondidas en otros lugares (micro-metástasis).

En la actualidad se ha avanzado en el diseño de nuevas drogas y en los esquemas de tratamiento (combinación de drogas, dosis, intervalos de administración, etc.). Lamentablemente la quimioterapia en muchos casos fracasa porque el tumor presenta mecanismos de resistencia a las drogas administradas (resistencia innata), o los desarrolla una vez iniciado el tratamiento (resistencia adquirida; Lehnert, 1996). Los mecanismos de resistencia pueden ser extra o intracelulares; dentro de los mecanismos extracelulares podemos mencionar la irrigación tumoral insuficiente que impide que la droga acceda a la célula tumoral en una concentración adecuada para tener efecto. En cuanto a los mecanismos intracelulares, que son múltiples, los podemos clasificar con fines didácticos en seis grupos que se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1. Mecanismos moleculares de resistencia.

- I Menor acumulación intracelular de las drogas.
- II Aumento de la inactivación de la droga o de intermediarios tóxicos
- III Alteración de las moléculas blanco (target) de las drogas.
- IV Reparación del DNA target dañado por las drogas
- V Alteración en los mecanismos que llevan a la **apoptosis**.
- VI Presencia de genes / moléculas cuyos mecanismos de acción aún son desconocidos.

La molécula más estudiada hasta la fecha es la proteína **P170** llamada así porque su peso molecular es de 170 kDa. Esta proteína, que se ubica en la membrana celular, actúa como una bomba que expulsa sustancias nocivas desde el interior de las células hacia el exterior, participando de esta manera en procesos de destoxificación. Forma parte entonces del mecanismo I (menor acumulación intracelular de las drogas) de la Tabla 1. La P170 se expresa en condiciones normales en la membrana plasmática de las células de numerosos órganos, siendo muy abundante en el riñón, el hígado y el intestino grueso; en cambio su expresión es baja en la glándula mamaria normal. La P170 puede expresarse en altos niveles en tumores de mama y de esta manera conferir resistencia a numerosas drogas antineoplásicas porque es capaz de expulsarlas de las células tumorales impidiendo que actúen y eliminen a dichas células. Hay numerosos trabajos publicados sobre la expresión de la P170 en cáncer de mama y sobre su efecto en la respuesta a la quimioterapia, pero todavía hay controversias con respecto a su utilidad clínica (Trock et al., 1997).

Otra molécula que puede estar expresada en las células tumorales mamarias y que se ha relacionado con sensibilidad/resistencia a drogas antineoplásicas es la proteína c-erbB-2, también conocida como HER-2/neu. En la Tabla 1 corresponde al grupo VI. Esta proteína no se encuentra en glándula mamaria normal y cuando aparece en un cáncer de mama se relaciona con un comportamiento tumoral más agresivo que se reflejará en mayor probabilidad de aparición de metástasis y en una supervivencia menor de la mujer. Esta proteína se localiza en la membrana celular y forma parte de una familia de receptores de factores de crecimiento cuyo miembro más conocido es el Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico (EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor). Por su ubicación en la membrana celular y por expresarse exclusivamente en células tumorales es un excelente blanco de

nuevas terapias, aunque todavía no se conoce exactamente cuál es su mecanismo de acción. Actualmente, uno de los tratamientos más nuevos en cáncer de mama es la administración por vía sistémica de un anticuerpo monoclonal contra la proteína c-erbB-2 llamado **Herceptin** (Trastuzumab®), este tratamiento solamente se puede realizar en mujeres cuyo tumor sobreexpresa la proteína c-erbB-2 (Cobleigh et al., 1999).

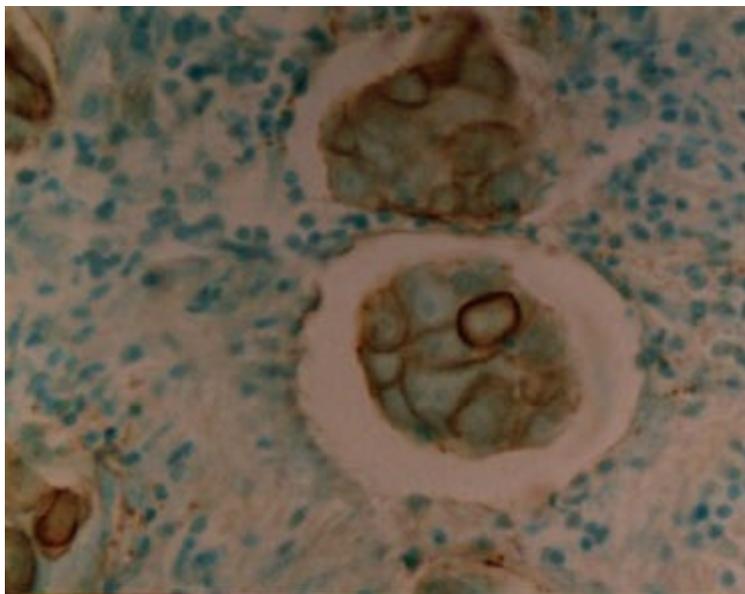


Figura 1. Microfotografía (en el microscopio óptico) de un cáncer de mama humano donde se observa a través de una técnica especial (inmunohistoquímica) la proteína c-erbB-2 (color marrón) en la membrana plasmática de las células tumorales.

En nuestro grupo de trabajo nos interesa identificar qué moléculas son capaces de predecir la respuesta a la quimioterapia. Por eso, hemos estudiado la expresión de diversas proteínas para saber si están relacionadas con resistencia a drogas en pacientes con cáncer de mama localmente avanzado (Vargas-Roig et al., 1999). En el trabajo que realizamos, todas las pacientes que ingresaron en este estudio recibieron el mismo esquema de quimioterapia (600 mg/m² de 5-Fluorouracilo, 60 mg/m² de doxorrubicina o epirubicina y 600 mg/m² de ciclofosfamida). Analizamos la expresión de diversas proteínas antes (en la biopsia diagnóstica) y después de la quimioterapia (en la pieza quirúrgica) a través de la técnica de inmunohistoquímica. La técnica de inmunohistoquímica se basa en la unión de un anticuerpo a su proteína

específica (antígeno) y se utiliza para identificar proteínas en un tejido. Se realizan cortes muy finos del tejido que se va a estudiar (5 a 6 μm de espesor) y se agrega el anticuerpo contra la proteína que se desea evaluar. Hay varias formas de visualizar con el microscopio óptico esta unión antígeno-anticuerpo. La que nosotros hemos utilizado se basa en el agregado en forma secuencial de segundos anticuerpos marcados con moléculas que permiten ver la reacción por medio de un cromógeno, que confiere un color marrón en las células que poseen la proteína que estamos estudiando.

Observamos que el 50% de las pacientes que desarrollaron **metástasis** expresaban la proteína c-erbB-2 mientras que solamente el 7% de las pacientes que estaban libres de enfermedad (hasta el momento de terminar el trabajo) sobreexpresaban esta proteína. Estos resultados nos sugieren que la presencia de esta proteína está indicando resistencia al tratamiento que se administró.

También hemos estudiado la expresión de proteínas de golpe de calor (Hsps: Heat shock proteins) como marcadores de respuesta a la quimioterapia en pacientes con cáncer de mama (Ciocca et al., 1997). Estas proteínas se encuentran en todos los organismos vivos y se sintetizan en respuesta a diversos tipos de estrés celular (por ejemplo: golpe de calor, hipoxia, administración de drogas, etc.). Forman una gran familia y se las nombra y clasifica de acuerdo a su peso molecular (por ejemplo Hsp27, porque tiene un peso molecular de 27 kDa). Algunas de las proteínas de golpe de calor se expresan en nuestras células en condiciones fisiológicas, es decir normalmente, y se las denomina en este caso proteínas constitutivas (Hsc: Heat shock constitutive). Cumplen papeles muy importantes acompañando a otras células en procesos esenciales para la célula como son la síntesis y la degradación de proteínas (Welch et al., 1992). Nosotros hemos estudiado la correlación entre algunas Hsps y la proliferación celular (Vargas-Roig et al., 1997). Hay evidencias de que algunas Hsps confieren resistencia a determinadas drogas in vitro (es decir en cultivos celulares). Nuestro grupo de trabajo estudió si la expresión de algunas de estas Hsps servía para predecir la respuesta a la administración de drogas en pacientes con cáncer de mama (Vargas-Roig et al., 1998).

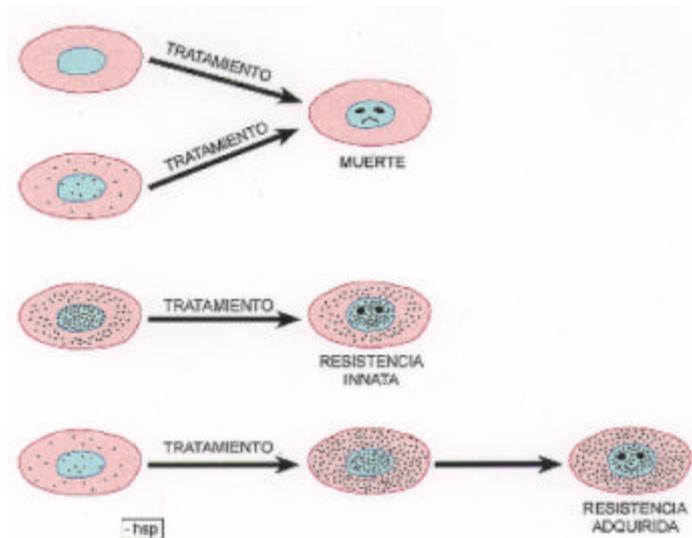


Figura 2. Esquema que muestra posibles situaciones que pueden existir en las células tumorales. Cuando la célula no tiene Hsps o tiene muy poca cantidad es sensible al tratamiento (administración de drogas) y muere. En cambio cuando la célula tumoral antes de iniciar el tratamiento o como consecuencia del tratamiento tiene mucha cantidad de Hsps no muere por efecto de las drogas (resistencia innata y resistencia adquirida respectivamente).

Las pacientes que ingresaron en nuestro estudio fueron tratadas con el mismo esquema de quimioterapia neoadyuvante en base a antraciclinas. Observamos que la administración de las drogas fue capaz de modificar la expresión de algunas Hsps; luego de la quimioterapia se observó un aumento en la expresión nuclear de Hsp27 y Hsp70 y una disminución en la expresión de Hsp70 y Hsc70. Al correlacionar la expresión de las Hsps con la evolución de las pacientes, observamos que aquellas pacientes cuyos tumores expresaban elevada Hsp70 nuclear, o elevada Hsp27 citoplasmática presentaron resistencia al tratamiento que se evidenció con la aparición de metástasis. También fue llamativo que la presencia de Hsp27 nuclear correlacionó con resistencia al tratamiento; cabe destacar que la Hsp27 se localiza en el citoplasma de las células. Todavía no se sabe a través de cuál(es) mecanismo(s) puede estar confiriendo resistencia a las drogas.

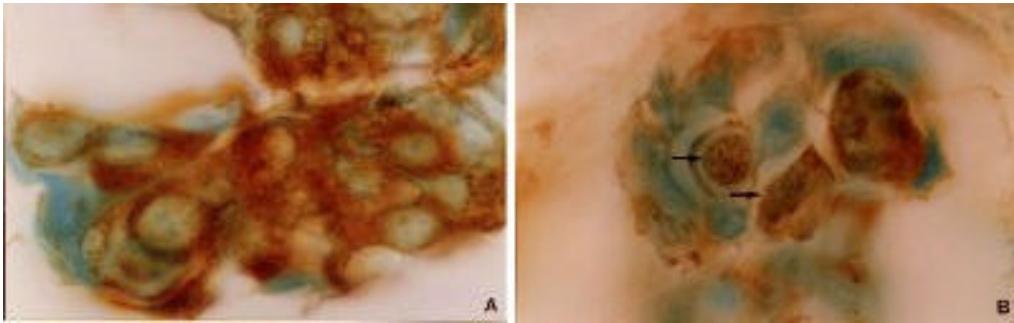


Figura 3. Tinción de la proteína Hsp27 a través de la técnica de inmunohistoquímica.

A) Prequimioterapia: antes de la administración de las drogas se observa la proteína (teñida de marrón) en el citoplasma de las células tumorales; B) Postquimioterapia: después del tratamiento se puede observar la proteína en el núcleo de las células (flechas).

Este tipo de estudios, donde se evalúa *in vivo* la expresión de marcadores moleculares y se los correlaciona con la respuesta al tratamiento, deben continuar incorporando más pacientes. El identificar en los tumores genes y/o proteínas que permitan predecir la sensibilidad/resistencia a las drogas le permitirá al médico diseñar para cada paciente el tratamiento más adecuado y optimizar de esa manera los resultados.

Punteros de Interés

Cáncer de mama: www.cancer.org/index.html

Apoptosis: www.nih.gov/sigs/aig/Aboutapo.html

P170: www.bi.umist.ac.uk/users/ford/lab/pgp.html

Herceptin: www.nasw.org/users/holtza/SHNASCOHerceptin.htm

Metástasis: www.baclesse.fr/cours/fondamentale/C13-processus/Process-0.htm

Referencias

Ciocca, D.R. & Vargas-Roig, L.M. (1997). Heat shock proteins and drug resistance in breast cancer. In: Samuel D. Bernal (ed.), *Drug Resistance in Oncology*, pg. 167-190, Marcel Dekker, Inc. New York.

Cobleigh, M.A., Vogel, C.L., Tripathy, D., Robert, N.J., Scholl, S., Fehrenbacher, L., Wolter, J.M., Paton, V., Shak, S., Lieberman, G. & Slamon, D.J. (1999). Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. *J. Clinical Oncol.*, 17: 2639-2648.

Lehnert, M. (1996). Clinical multidrug resistance in cancer: a multifactorial problem. *Eur. J. Cancer*, 32 A: 912-920.

- Trock, B.J., Leonessa, F. & Clarke, R. (1997). Multidrug resistance in breast cancer: a meta-analysis of MDR1/gp170 expression and its possible functional significance. *J.Natl. Cancer Inst.*, 89: 917-931.
- Vargas-Roig, L.M., Fanelli, M.A., López, L.,A., Gago, F.E., Tello, O., Aznar, J.C., & Ciocca, D.R. (1997). Heat shock proteins and cell proliferation in human breast cancer biopsy samples. *Cancer Det. & Prev.*, 21: 441-451.
- Vargas-Roig, L.M., Gago, F.E., Tello, O., Aznar, J.C. & Ciocca, D.R. (1998). Heat shock protein expression and drug resistance in breast cancer patients treated with induction chemotherapy. *Int.J.Cancer (Pred. Oncol.)*, 79: 468-475.
- Vargas-Roig, L.M., Gago, F.E., Tello, O., Martin de Civetta, M.T. & Ciocca, D.R. (1999). c-erbB-2 (HER-2/neu) protein and drug resistance in breast cancer patients treated with induction chemotherapy. *Int.J.Cancer (Pred. Oncol.)*, 84: 129-134.
- Welch, W.J. (1992). Mammalian stress response: cell physiology, structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease. *Physiol. Rev.*, 72: 1063-1081.

Glosario

- Anticuerpo monoclonal:** Inmunoglobulina (proteína que participa en mecanismos de defensa) producida por un clon (grupo de células que producen el mismo anticuerpo y que se originaron a partir de la misma célula madre).
- Antraciclinas:** drogas pertenecientes al grupo de antibióticos antitumorales entre las que se encuentran la doxorubicina y la epirubicina.
- Apoptosis:** tipo de muerte con características bioquímicas y morfológicas específicas que pueden sufrir las células.
- Golpe de calor:** aumento de la temperatura óptima de crecimiento de las células durante un breve período. Ésto origina la síntesis de un grupo específico de proteínas llamadas proteínas de golpe de calor.
- Hipoxia:** bajo contenido o tensión de oxígeno.
- kDa (kilodaltons):** mil veces la unidad de medida (Dalton) del peso de una proteína.
- Membrana plasmática:** membrana que rodea una célula (= membrana celular).
- Metástasis:** transferencia de la enfermedad cancerosa de un órgano a otro no conectados directamente entre sí.
- Receptores:** moléculas que tienen la capacidad de unir a una sustancia específica llamada ligando. En el caso del HER-2/neu, aún no se conoce su ligando específico, se le llama entonces receptor huérfano, y se activa por otros receptores cooperadores que sí se unen con ligandos que son factores de crecimiento

Laura María Vargas Roig: Médica y Doctor en Medicina egresada de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Cuyo. Investigadora del CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas) con lugar de trabajo en el Laboratorio de Reproducción y Lactancia (LARLAC) del Centro Regional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CRICYT), Mendoza, Argentina. Vice-Presidenta de la Fundación Argentina para la Investigación del Cáncer (FAIC).

Temas de interés: cáncer de mama, resistencia a drogas antineoplásicas, proteínas de golpe de calor, ciclo celular, apoptosis, mecanismos de reparación de daños del ADN.

Daniel Ramón Ciocca: Médico y Doctor en Medicina egresado de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Cuyo. Investigador del CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas). Jefe de la Unidad de Histopatología Endocrina del Laboratorio de Reproducción y Lactancia (LARLAC) del Centro Regional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CRICYT), Mendoza, Argentina. Presidente de la Fundación Argentina para la Investigación del Cáncer (FAIC).

Temas de interés: proteínas de golpe de calor, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, oncogenes, antioncogenes, receptores hormonales, resistencia a drogas antineoplásicas.