Oria Hernández J, Rendón Huerta E, Reyes Vivas H, Romero Álvarez I, Velázquez López I (eds.). **Mensaje Bioquímico, Vol. XXXI**. Depto. Bioquímica, Fac. Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Cd. Universitaria, México, D.F., MÉXICO. (2007). (http://bq.unam.mx/mensajebioquimico)
(*ISSN-0188-137X*)

CÁNCER DE GLÁNDULA MAMARIA Y METÁSTASIS: UN CRECIENTE PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA EN MÉXICO

Alejandro Zentella Dehesa [1,2], Susana Frías [1,2], Gabriela Galicia Vázquez [1,2], Edgar Josué Ruiz Medina[2], Emilio Córdova Alarcón [4], José Luís Ventura Gallegos [2], Julio R Ramírez Velázquez [3], Noé Castro Sánchez [3], Delina G Móntes Sánchez [1,2] y María de Jesús Ibarra Sánchez [1]

[1] Departamento de Bioquímica,
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán".
[2] Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental,
Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.
[3] Departamento de Hematología y Oncología,
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán."
[4] Instituto Nacional de Ciencias Genómicas.

Resumen

El cáncer de glándula mamaria es la manifestación oncológica más frecuente en mujeres en todo el mundo. En México esta forma de cáncer presenta tazas de muerte que van en aumento sin que se sepa con certeza la razón de este incremento. La mortalidad está ligada a los estadios más avanzados de la enfermedad donde se presenta diseminación del cáncer a órganos como el pulmón, hígado y hueso. Los estudios básicos y clínicos han evidenciado una serie de oncogenes que participan en su desarrollo como el receptor Her-2/Neu o las ciclinas D1, D3 y E, así como los genes supresores p53, ATM, PTEN, BRCA1 y BRCA2. Junto con la expresión de receptores a hormonas esteroides como el receptor de estrógenos y de progesterona, estos genes se emplean ya rutinariamente en el diagnóstico del cáncer de glándula mamaria y son de utilidad en el pronóstico de la evolución de la enfermedad. Los tratamiento de quimio, radioterapia y los procedimientos quirúrgicos aplicados a las etapas tempranas de la enfermedad son muy exitosos para curar a estas pacientes. Sin embargo, el panorama es menos favorable cuando se aplica a pacientes con formas que presentan invasividad y metástasis. Actualmente, las pacientes que presentan metástasis se consideran incurables. El tener un mayor conocimiento sobre las bases moleculares y celulares que

determinan la capacidad de diseminación de las células de cáncer de glándula mamaria así como de su selectividad por su órganos blanco puede ayudar a interferir con estas formas de la enfermedad.

Palabras clave: invasividad tumoral, metástasis, microarreglos, tamoxifen, terapias blanco.

Abstract

Breast cancer is the most frequent oncologic manifestation in women throughout the world. The death rate due to this type of cancer is increasing without any known explanation. Mortality is linked to the more advanced stages of the disease where dissemination occurs to organs such as lung, bone marrow or liver. Basic and clinical studies have uncovered a series of oncogenes that participate in the progression of the disease such as the receptor HER-2/Neu or the cyclins D1, D3 and E, as well as the tumor suppressor genes p53, ATM, PTEN, BRCA1 and BRCA2. Together with the expression of steroid hormone receptors to estrogens and progesterone these genes are normally used in the diagnosis of breast cancer as well as in the prognosis of the progression of the disease. When applied to the early stages of the disease, chemo- and radio-therapies together with surgical procedures are very effective in curing patients. However, when used in patients with invasive or metastatic forms of the disease the outlook is less promissory. Today, metastatic forms of breast cancer are considered incurable. Having a better understanding of the molecular and cellular bases of the dissemination of breast cancer cells as well as of the bases for the organ selectivity may contribute to interfere with these stages of the disease.

Keywords: tumoral invasiveness, metastasis, microarrays, tamoxifen, target based therapies

Introducción

El cáncer es una de las tres primeras causas de muerte en la población mundial (Informe 2002 de la Organización Mundial de la Salud, (WHO); [1]. En nuestro país la muerte de pacientes oncológico se encuentra después de las enfermedades cardiovasculares y la diabetes. En algunos países el cáncer de glándula mamaria es la primera causa de muerte entre mujeres en edad reproductiva [2] y en México ocupa el segundo lugar, aunque en algunos estados del norte de la República ya se encuentra en primer lugar. Más aún, la taza de mortalidad es mayor a la de cualquier otra enfermedad oncológica en las mujeres incluso que la de cáncer cérvicouterino (INEGI 2004) [3]. A partir de estos datos se estima que diariamente mueren entre 8 y 11 mujeres mexicanas a causa de cáncer de glándula mamaria y esta cifra va en aumento.

Afortunadamente, cuando el cáncer se detecta en sus etapas iniciales, los esquemas terapéuticos existentes son muy eficientes; por desgracia, esto no es así para las etapas invasivas y el pronóstico es malo para las pacientes con metástasis. Por tanto, la adquisición de un fenotipo invasivo, que permite la diseminación de células cancerosas, representa hoy en día una de las principales causas de morbimortalidad en las pacientes con cáncer de glándula mamaria y para los pacientes oncológicos en general. En países desarrollados donde la detección temprana de enfermedades como el cáncer cervocouterino o el cáncer de glándula mamaria es muy eficaz la taza de mortalidad es mucho menor a la incidencia en la población. Sin embrago, en países como el nuestro, la falta de programas adecuados de detección temprana se refleja en una elevada taza de mortalidad asociada a formas avanzadas de la enfermedad.

Oncogenes y genes supresores de tumor

Los estudios realizados durante la segunda mitad del siglo pasado con virus que inducen tumores en animales definieron al cáncer como una enfermedad causada por genes alterados, lo que permitió la identificación de los oncogenes celulares y los genes supresores de tumores [4-8]. Este avance ha permitido comprender algunos mecanismos por los cuales una célula normal se vuelve cancerosa y se multiplica en forma descontrolada. El estudio de estos genes alterados mostró que el cáncer, es en realidad una variedad de diferentes enfermedades con características fenotípicas y comportamientos similares como la proliferación descontrolada, la resistencia a la apoptosis y la posibilidad de invadir tejidos vecinos y diseminarse a órganos distantes de su tejido de origen [9].

El análisis retrospectivos de los genes mutados a lo largo de la progresión del cáncer de colon en biopsias de pacientes llevó a la conclusión de que las mutaciones se acumulan en forma secuencial a lo largo de varias décadas de vida, iniciándose como un tumor benigno asociado a la aparición de dos o tres mutaciones en oncogenes o genes supresores de tumor [8].

Oncogenes

Los oncogenes son versiones alteradas de genes normales conocidos como protooncogenes, cuyas funciones son importantes para el control de la proliferación celular, la apoptosis y la diferenciación celular. Los mecanismos por los cuales se transforman en oncogenes son la amplificación génica, rearreglos génicos, mutaciones puntuales y en algunos casos la participación de agentes virales. Por ejemplo, el receptor Her2, pertenece a la familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). En el cáncer de glándula mamaria este gen suele amplificarse generando varias copias del gen y por ende hay una sobreexpresión de este receptor. El resultado es una ganancia de función que no sólo favorece una proliferación descontrolada, sino que además activa mecanismos de protección contra la muerte celular por apoptosis. Mientras que Her-2 sólo se presenta en el 20-25% de las pacientes con cáncer de glándula mamaria en el 50% de todos los diferentes tipos de cáncer humano, se presenta el oncogén ras se genera por mutación del protooncogén ras. Por tanto los protooncognes son genes que codifican para elementos que normalmente activan las vías de señalización mitogénica. Algunas mutaciones generan productos génicos permanentemente activos, estas versiones mutantes de los protooncogenes se denomina oncogenes, siendo ras y myc los más frecuentes en la mayoría de los tumores humanos. Ras pertenece a la familia de proteínas G pequeñas (GTPasas que intercambian GDP por GTP). Cuando están unidas a GTP conduce una señal proliferativa evocada por factores solubles como las del factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) o los factores de crecimiento similares a la insulina (IGFs). Las mutaciones oncogénicas de ras interfieren con su actividad de GTPasa y por lo tanto, en las células tumorales se prolonga su estado activo y la señalización mitogénica [3, 5, 6].

Genes supresores de tumores

Por otro lado, los genes supresores de tumor promueven la formación de un tumor cuando existe una pérdida o inactivación de éstos o de sus productos proteicos [4,6-9]. Las mutaciones puntuales o deleciones más extensas promueven la inactivación de estos genes en los diferentes tumores humanos. El representante más frecuente de este grupo de genes es p53, una nucleoproteína cuyo estado de fosforilación oscila entre G1 y S y entre M y G1. P53 es un factor de transcripción tetramérico que activa la expresión de un gran número de genes involucrados en múltiples procesos como arresto en el ciclo celular, senescencia, apoptosis, angiogénesis y reparación del DNA. Uno de los genes que se activan por p53 es el inhibidor de cinasas dependientes de ciclinas p21. En respuesta a daño en el DNA celular se expresa p53 y

en consecuencia p21 con lo que se interrumpe temporalmente el avance del ciclo celular. Por tanto, las células que contienen mutaciones en p53 y que inactivan su función, no pueden detener la progresión del ciclo celular ni la replicación del DNA cuando está dañado. El resultado es que el material genético se replica con alteraciones cromosómicas, aumentando así la taza de acumulación de mutaciones [3-6]. Paralelamente, las mutaciones con pérdida de función transcripcional de p53 previene la activación de la muerte celular por apoptosis que se da cuando p53 promueve la expresión de proteínas proapotóticas como puma.

Los estudios sobre la progresión del cáncer de colon mostraron que las mutaciones tempranas no ocurren necesariamente en oncogenes, ya que el gen responsable de la formación de polipos adenomatosos del colon (APC: adenomatous polyposis coli) es un gen supresor de tumores. La gran mayoría de los genes mutados en las primeras etapas de esta progresión tumoral corresponden a elementos de señalización de vías que controlan la proliferación celular.

Mientras que ras no se encuentra mutado con frecuencia en el cáncer de glándula mamaria, las mutaciones de p53 si son muy frecuentes y se asocian con un mal pronóstico. Por lo anterior, la detección de mutaciones en p53 suele formar parte de los estudios histopatológicos que se realizan en biopsias de cáncer de glándula mamaria.

Es importante resaltar que aunque las células tumorales pueden estar mutadas en distintos oncogenes y genes supresores de tumores las células presentan un fenotipo muy semejante al que se denomina estado transformado. El primero en emplear este término fue Peyton Rous quién en 1904 inició los estudios celulares de la transformación oncogénica asociada a la infección aviar con el virus del sarcoma de Rous. Estos estudios llevaron a David Bishop para la identificación del primer oncogen, la cinasa de residuos de tirosina v-src, que en cáncer humano no se presenta. Todas las células transformadas presentan comportamientos aberrantes como el ser inmortales, presentar una proliferación descontrolada independiente de factores externos, viabilidad y proliferación independiente de su adhesión a un sustrato, la inhibición de la muerte celular por apoptosis, la capacidad de promover su vascularización y de invadir los tejidos vecinos así como la capacidad de diseminarse y desarrollar focos de crecimiento secundario o metástasis [5, 6, 8]. Como ya se mencionó, esta última fase de la progresión tumoral es la principal causa de muerte relacionada a todas las formas de cáncer [9].

¿Cuántos genes son necesarios para generar un fenotipo transformado? Bastó con la sobreexpresión de tres genes en células epiteliales de glándula mamaria para inducir un fenotipo inmortal y con características transformadas. Los genes introducidos fueron: 1) la subunidad catalítica de la telomerasa, que permite mantener la longitud de los telómeros al final de cada replicación; 2) el antígeno T del virus de simios SV40 que interfiere con las funciones de las proteínas de retinoblastoma (Rb) y p53, dos frenos del ciclo celular y 3) la oncoproteína H-ras que activa la cascada mitogénica de las MAP cinasas. La sobreexpresión de estos tres genes condujo a la amplificación del protooncogen c-myc. Es interesante que a pesar de que ninguno de los tres oncogenes introducidos corresponde a los oncogenes que normalmente se asocian al desarrollo de tumores de la glándula mamaria igual se generó el fenotipo tumoral con un bajo grado de diferenciación, capaz de infiltrarse y de formar tumores en el tejido mamario al ser inyectadas en ratones atímicos [10].

Estadificación, pronóstico y tratamiento

El cáncer de glándula mamaria se estratifica en cinco estadios: 0) corresponde a pacientes con un crecimiento canceroso in situ; I) generalmente involucra un tumor en etapas tempranas de vascularización menor a 2 cm de diámetro, ausente de los ganglios y sin metástasis; II) son pacientes con un tumor vascularizado, con un diámetro mayor de 2 cm y menor a 5 cm, que está presente en ganglios, pero que aún no presenta metástasis; III) pacientes con un tumor con un diámetro mayor a 5 cm y que ya se encuentra presente en

nódulos supraclaviculares y IV) pacientes que ya presentan focos de crecimiento metastásico. La mayoría de las pacientes en México llegan a los servicios de oncología entre los estadios II y IV. Su pronóstico es mejor si los estudios histopatológicos son negativos para los receptores de estrógenos y de progesteronas así como a la amplificación del receptor Her2. Es igualmente bueno si las biopsias son negativas para mutaciones en los genes supresores de tumores p53, BRCA1 y BRCA2.

En contraposición a la eficacia curativa del la quimioterapia, la radioterapia y los procedimientos quirúrgicos cuando el cáncer se detecta en etapas tempranas el pronóstico es malo y puede conducir a la muerte cuando se detecta en etapas invasivas o metastásicas. Si bien hay un extenso conocimiento sobre los genes que dan origen al cáncer y sobre las funciones que se encuentran alteradas, aún no existe ninguna terapia molecular curativa. Este tipo de terapias orientadas, en su gran mayoría, a interferir en forma selectiva con la función incrementada que se asocia con un oncogén en particular se denominan “terapias blanco”. Esta falta de efectos curativos de las terapias blanco reflejan muy probablemente la naturaleza genética multifactorial de las enfermedades oncológicas. Una de estas terapias blanco con resultados alentadores es el uso de anticuerpos monoclonales humanizados contra el receptor Her2 que se sobreexpresan en el 20-25 % de las formas invasivas de cáncer de glándula mamaria. Este anticuerpo, cuyo nombre comercial es trastuzumab o herceptina al unirse al receptor Her2 promueve la muerte por apoptosis de las células de cáncer de glándula mamaria. Sin embargo, sus efectos citotóxicos no son suficientes para que pueda ser usado como una monodroga, por tanto, el trastuzumab se emplea, con muy buenos resultados, en combinación con inhibidores de la función de los microtúbulos como el taxol o la vincristina o con agentes que dañan al DNA como la adriamicina para debilitar al tumor antes de una cirugía. Con todo, las terapias blanco siempre revelan un panorama más complejo cuando se evalúan sus efectos secundarios. Así, por ejemplo, el trastuzumab produce alteraciones cardiacas, en particular una disfunción sistólica, y además, puede inducir un broncoespasmo pulmonar semejante al de asma, sin que hasta la fecha se comprendan las bases moleculares de estos dos efectos colaterales adversos.

Por otro lado, los tratamientos de quimio y radioterapia más eficaces siguen siendo hasta hoy relativamente inespecíficos al estar dirigidos a envenenar a todas las células con una alta tasa de división celular. Ya que las células tumorales se dividen más rápidamente que las células de los diversos epitelios las células tumorales mueren, pero las células epiteliales también se envenenan, pero gracias a que se dividen más lentamente que las células tumorales no llegan a morir. Esto explica los múltiples efectos colaterales como la caída del cabello o la inflamación y disfunción de los epitelios de la cavidad oral y del tracto gastrointestinal conocida como mucocitis. El potencial curativo de la quimio y la radioterapia sigue justificando sus efectos nocivos colaterales. Por tanto, las aproximaciones inespecíficas siguen siendo, en la mayoría de los tratamientos, la forma más efectiva de atacar el avance del cáncer. Estos fármacos incluyen antimetabolitos como la 5´-fluoror uridina, agentes que producen daño oxidativo o alquilación del DNA como el cisplatino o la adriamicina y fármacos que interfieren con los microtúbulos como el taxol o la vincristina. Como ya hemos mencionado, en el cáncer de glándula mamaria la adriamicina, también conocida como doxorubicina constituye la primera línea de tratamiento, seguida del taxol y la vincristina. Cabe mencionar que para el cáncer de glándula mamaria la radioterapia no forma parte de los tratamientos convencionales.

Es claro que el desarrollo y la aplicación de procedimientos y pruebas diagnósticas que permitan la identificación temprana son las mejores aproximaciones para reducir la mortalidad del cáncer de glándula mamaria y del resto de las enfermedades oncológicas. Sin embargo, en el presente y en el futuro inmediato, los servicios oncológicos de nuestro país seguirán atendiendo pacientes con estadios avanzados de la enfermedad que en muchos casos presentan metástasis o la desarrollan dentro de los siguientes 5 años de haber sido sometidas a esquemas combinados de quimioterapia seguidos de cirugía. Por este motivo, diversos grupos

de investigación incluyendo al nuestro siguen estudiando las bases moleculares y celulares de la invasión y de la metástasis.

Progresión tumoral

De todas las características del fenotipo transformado, una taza elevada de proliferación es la primera en presentarse y es la más común de todas ellas. Es interesante notar que la mayoría de los tumores sólidos se derivan de células epiteliales, que por su propia naturaleza presentan altos índices de división celular. Este es el caso del cáncer de pulmón, la enfermedad oncológica más prevalente y de mayor mortalidad en el mundo, del cáncer de piel (melanomas) o del cáncer de colon o de riñón. También se derivan de epitelios secretores, como el cáncer de próstata, el cáncer de ovario o el cáncer de glándula mamaria, en este último la gran mayoría de los tumores se derivan de células del epitelio ductal y en menor grado del epitelio lobulillar, siendo este último el responsable de secretar la mayoría de las proteínas y demás componentes de la leche. Otros tumores se derivan de epitelios endocrinos como el cáncer de páncreas o el de tiroides. La elevada frecuencia con la que los tumores se originan de células epiteliales se asocia a su potencial proliferativo. Sin embargo, las células tumorales también se originan de otros tejidos como los sarcomas que se derivan de células del mesénquima o los linfómas, derivados de las células progenitoras de los diversos linajes hematopoyéticos.

A pesar de tener un origen tisular diverso, de provenir de epitelios o de células del mesénquima, de presentar diferentes combinaciones de oncogenes y de genes supresores de tumores, la transformación celular y la progresión que va de un crecimiento contenido (benigno) hacia un crecimiento invasivo y metastático (maligno) se encuentran sorprendentemente conservadas entre los diferentes tipos de cáncer y presentan fenotipos y comportamientos muy semejante.

La figura 1 muestra en forma esquemática la progresión del cáncer de glándula mamaria que va de un crecimiento neoplásico benigno a un crecimiento metastásico en órganos distantes como pulmón hígado y hueso [8]. El tumor se manifiesta inicialmente como un foco de proliferación anormal o neoplasia (nuevo crecimiento). Cuando se pierde la organización natural de las células en el tejido de origen se identifican diferentes grados de displasia (crecimiento desordenado), todas estas etapas son tratables y tienen un buen pronóstico curativo por lo que se consideran “benignas”. En una segunda etapa, las células cancerosas adquieren la capacidad de destruir las láminas basales que delimitan el espacio de su tejido de origen y se consideran invasivas. La masa tumoral puede aumentar en volumen hasta 1 cm^3 sin necesidad de estar vascularizada, nutriéndose por difusión del líquido intersticial. Es importante considerar que la detección de una masa de un 1 cm^3 o menor no es fácil y no suele identificarse en muchos tumores originados en tejidos internos pero es posible en la glándula mamaria con una exploración cuidadosa y frecuente. Sin embargo, a partir de este volumen, muchas de las células tumorales sufren hipoxia, misma que induce la producción de factores que promueven el crecimiento de nuevos vasos, principalmente VEGF (factor de crecimiento del endotelio vascular) y bFGF (factor básico de crecimiento de fibroblastos). Estos factores y otros cambios en el entorno de la masa tumoral favorecen la vascularización del tumor permitiendo su crecimiento más allá de 1 cm^3. A partir de esta etapa se considera que el tumor es “maligno” por su capacidad invasiva local. La tercera etapa se caracteriza por la diseminación de las células tumorales por vía hematógena o linfática, proceso denominado metástasis. Este proceso se inicia cuando las células ingresan a la circulación sanguínea o linfática (intravasación) pudiendo así alcanzar cualquier parte del cuerpo. Al circular por los vasos que irrigan a sus órganos blanco las células metastásicas interaccionan con el endotelio, se adhieren firmemente y atraviesan la monocapa endotelial por un proceso denominado extravasación. Una vez en el espacio intersticial de sus órganos blanco ocurre la invasión y se establece un foco de crecimiento secundario en el órgano blanco. La adhesión, la extravasación y el establecimiento parecen depender de una interacción funcional entre el órgano blanco y las células metastásicas. Se ha

estimado que sólo una de cada millón de las células metastásicas que ingresan al torrente sanguíneo logra establecer un foco metastásico exitoso [5, 9]. Por ello, la gran mayoría de los pacientes que presentan formas metastásicas tienen mal pronóstico.

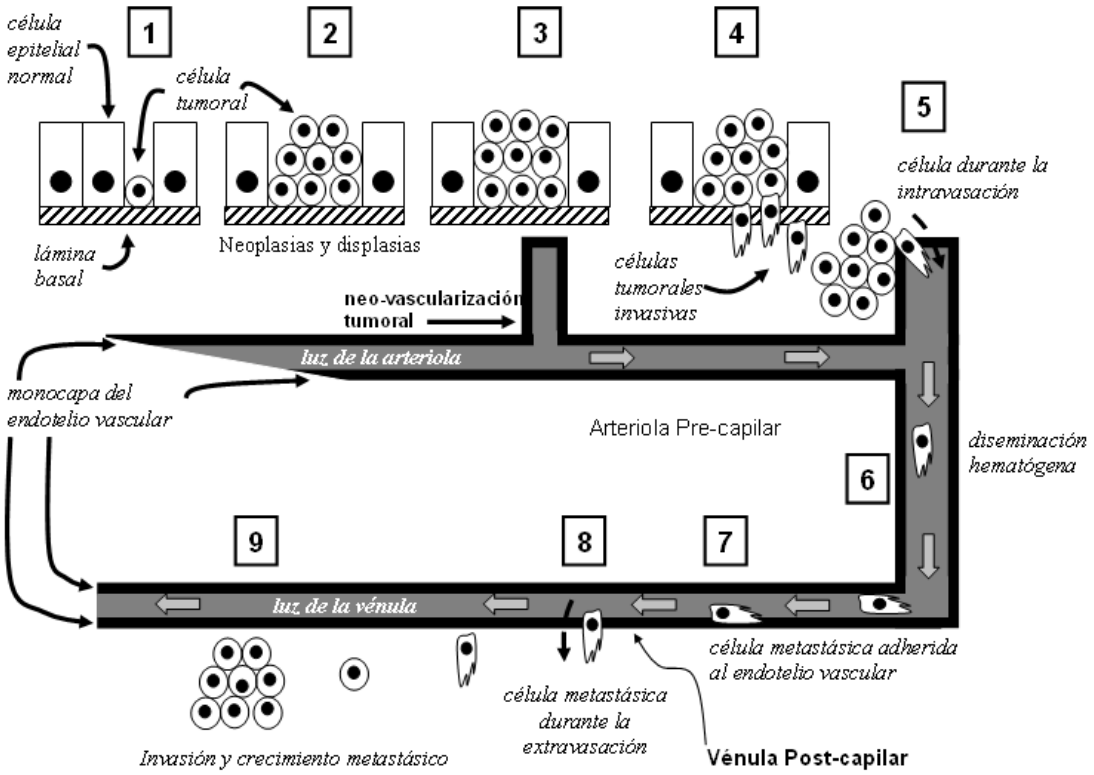

Figura 1 Etapas en la progresión tumoral. 1: aparición de una célula tumoral dentro de un epitelio; 2: crecimiento neoplásico benigno, contenido dentro de su lámina basal; 3: adquisición de capacidad invasiva *in situ* al romper la lámina basal; 4: vascularización del tumor; 5: intravasación, las células tumorales entran al torrente sanguíneo o a la circulación linfática; 6: diseminación por los lechos vasculares o linfáticos; 7: adhesión de las células metastásicas al endotelio vascular de órganos blanco distantes; 8: extravasación de la célula metastásica e ingreso al tejido blanco; 9: crecimiento secundario de las células metastásicas.

Es importante resaltar que las células cancerosas no presentan comportamientos que no estén codificados en el genoma, simplemente los presentan fuera de tiempo y del lugar para el que están fisiológicamente programados. Una gran interrogante que aún queda por ser resuelta es como un grupo relativamente pequeño de mutaciones en oncogenes y genes supresores de tumores permite la expresión anormal de programas genéticos invasivos y metastáticos, reminiscentes de estadios embrionarios. Así, por ejemplo, la elevada taza de proliferación de las células tumorales es semejante a la acelerada división celular durante las primeras etapas del desarrollo embrionario o a la expansión clonal de las células B que producen anticuerpos. La capacidad de invadir tejidos distintos al tejido de origen es similar al comportamiento de las células del ectotrofoblasto durante la implantación de la mórula, o a la forma en que se infiltran los neutrófilos y los polimorfonucleares durante una reacción inflamatoria [5]. Otro ejemplo de migración e invasión ocurre cuando las células que forman parte del epitelio de la cresta neural migran para formar las estructuras derivadas de los arcos branquiales. Este fenómeno es semejante a lo que ocurre en melanomas invasivos y metastásicos [13]. Los procesos de vascularización tumoral recapitulan lo que ocurre cuando los órganos y tejidos después de un

infarto y no pueden nutrirse más por difusión del líquido intersticial. Al entrar en hipoxia, estos tejidos favorecen la formación de nuevos vasos (angiogénesis).

En el caso del cáncer de glándula mamaria, la diseminación sigue inicialmente el flujo natural de la circulación linfática llevando a las células cancerosas a los ganglios linfáticos axilares (Fig. 2). La alta frecuencia de metástasis pulmonar también se explica en parte por ser este órgano el primero al que llegan las células metastásicas. Sin embargo, la invasión a pulmón requiere de una interacción de codependecia entre las células metastásicas y el mesénquima pulmonar. Las células de cáncer de glándula mamaria también pueden invadir hueso cortical, médula ósea o hígado (Fig. 2).

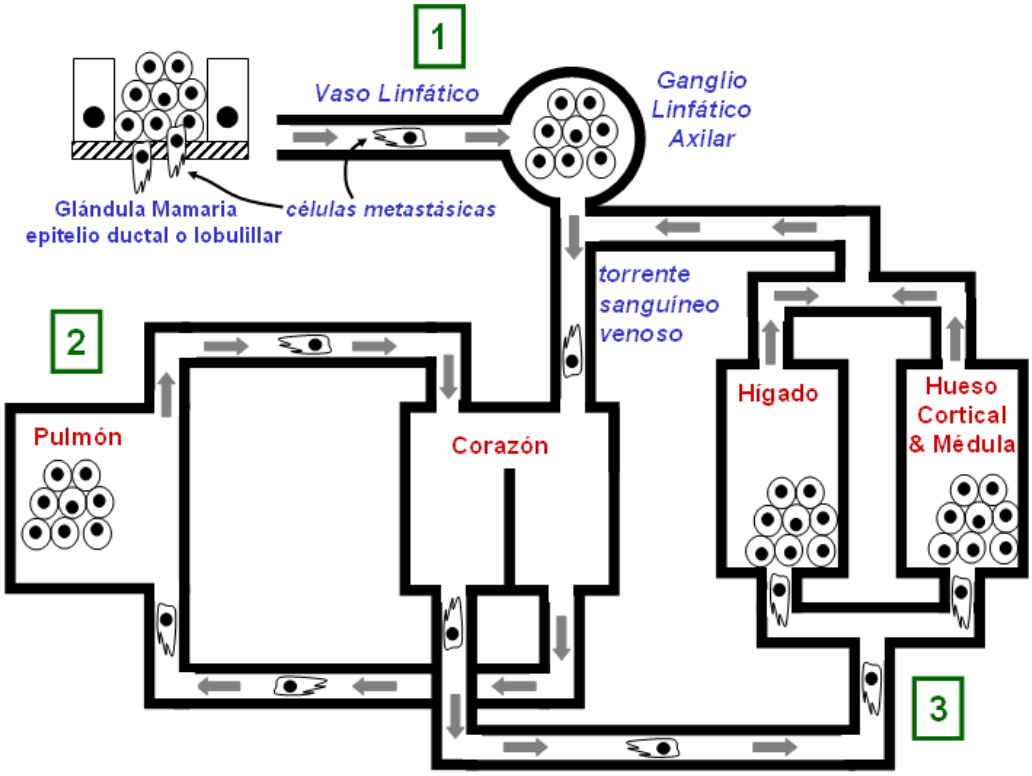

Figura 2. Esquema de la diseminación metastásica de las células de cáncer de glándula mamaria. 1) Las células metastásicas viajan a través del los numerosos vasos linfáticos hacia los ganglio axilares. 2) Después de ingresar al torrente sanguíneo venoso atraviesan el corazón y pasan por el pulmón donde se generan frecuentes crecimientos metastáticos. 3) Si no se establecen en el pulmón, vuelven a atravesar el corazón y con la sangre oxigenada llegan al hígado, al hueso cortical o a la médula osea.

Mecanismos básicos de la metástasis

¿Qué es lo que guía a las células tumorales para que sin importar su origen sigan una progresión tumoral muy similar que culmina con la metástasis? Esta sigue siendo una gran interrogante que carece de una respuesta clara.

Un paso previo a la transformación celular es la inmortalización, producto de la inestabilidad cromosómica que promueve las aberraciones cromosómicas o las mutaciones puntuales. Actualmente, se considera que la mayoría de estas mutaciones son letales ya que ocurren en genes con funciones esenciales para la vida celular: metabolismo intermediario,

generación de energía, elementos del citoesqueleto, elementos de control del tráfico vesicular, síntesis de proteínas y otros componentes. Sin embargo, las células tumorales que sobreviven quedan sujetas a un proceso de selección donde el microambiente tisular ofrece una serie de restricciones y condiciones favorables que se manifiestan como el tipo de matriz extracelular y los factores solubles características del tejido. Por tanto, se considera que la metástasis se da cuando el microambiente tisular del órgano blanco provee de elementos complementarios a las necesidades de las células tumorales.

Un elemento novedoso ha sido el descubrimiento de que las células tumorales también secretan factores propios del tejido invadido, con lo que se establece una relación de codependencia entre las células metastásicas y el tejido invadido. En el caso de la metástasis ósea por células de cáncer de glándula mamaria, es claro que la expresión de varios componentes de la matriz ósea, como osteopontina, colágena tipo I, y reguladores de la maduración de osteoclástos como osteocalcina y osteoprotegerina son condicionantes de la malignización y la metástasis a hueso [14]. En conclusión, es claro que hay comunicación y codependencia entre las células metastásicas y los órganos que invaden pero aún resta mucho para que tengamos un entendimiento claro del funcionamiento de estas relaciones y de su importancia en el desarrollo de las metástasis. Este concepto tiene su origen en la hipótesis de la "semilla y tierra" ("seed and soil"), propuesta en 1889, por el cirujano inglés Stephen Paget y que destaca que la distribución de las metástasis no se debe a un "fenómeno azaroso", sino que las células tumorales (la "semilla") presentan una "afinidad" o tropismo y dependencia específica por el ambiente de sus órganos blanco (la "tierra"). Esta hipótesis fue rebatida por James Swing (1928) que explicaba la metástasis con base en la estructura anatómica del sistema vascular, posición que prevaleció hasta los años 1970s con los estudios de Sugarbaker (1979). A partir de entonces se considera que las metástasis regionales pueden ser atribuidas a consideraciones anatómicas o mecánicas tales como la circulación venosa eferente o el drenaje linfático hacia ganglios y nódulos linfoides regionales, como ocurre en el cáncer de glándula mamaria, mientras que, las metástasis a órganos distantes son procesos que ocurren en forma órgano-específicos y que requieren de interacciones funcionales [13-15].

La visión clásica de la progresión tumoral postulaba que tanto la adquisición de un fenotipo metastático como las características que determinan la invasión a un órgano en particular se establecen tardíamente cuando el tumor adquiere características malignas. En años recientes los grupos de investigación de Friend, Golup y de Massagué han encontrado evidencia que indica que tanto el potencial metastático como el tropismo hacia uno u otro órgano parecen estar determinados en las etapas tempranas de la progresión, cuando aún es un tumor benigno [16-19]. Hoy en día se considera que el potencial metastásico se define en etapas tempranas durante la transformación celular, pero que su manifestación depende en buena medida del fondo genético del individuo afectado. Este escenario contempla entonces a los llamados genes de susceptibilidad, que sin ser elementos causales del desarrollo metastático, si pueden facilitar el proceso [21].

Ha habido avances significativos en el estudio de las bases moleculares de la metástasis órgano-específica en el caso del cáncer de glándula mamaria. El análisis comparativo del patrón de la expresión de células de cáncer por medio de la técnica de microarreglos ha mostrado que las células metastásicas expresan una centena de genes que parecen estar asociados al fenotipo invasivo y al tropismo órgano específico [11,12]. Así, por ejemplo, la sobreexpresión de diferentes combinaciones de epiregulina (EREG), las metaloproteinasas tipos 1 y 2 (MMP1, MMP2) o de la proteína de adhesión vascular (VCAM), junto con otra decena de genes en tumores de cáncer de glándula mamaria en estadio I parecen ser predictivas de metástasis a pulmón. En contraste, la sobreexpresión de interleucina 11 (IL-11), de un receptor de quimiocinas (CXCR4), de la metaloproteinasa 1 (MMP1) y del factor de crecimiento de fibroblastos tipo 5 (FGF5) junto con otro pequeño grupo de genes predice una metástasis a hueso. Aún queda por determinarse cómo este tipo de resultados puede encontrar una aplicación práctica en la clínica.

La especificidad por ciertos órganos no se deba sólo a la capacidad de interacción entre células tumorales y el endotelio vascular, sino que también involucra la expresión de factores atrayentes tales como quimiocinas y la expresión de sus receptores en las células tumorales. Por ejemplo, se ha encontrado la expresión de receptores de quimiocinas como CXCL12/CXCR4 y CCL21/CCR7 en células metastásicas, [22, 23].

En la actualidad, la búsqueda de una firma molecular que prediga un fenotipo metastático y el tipo de órgano que será invadido y sobre los mecanismos celulares de la adhesión y extravasación llevarán a un mejor entendimiento de las diferentes fases de la metástasis. Se espera que este tipo de estudios permitan establecer y desarrollar mejores estrategias terapéuticas y el desarrollo de fármacos, ya sea para limitar o prevenir la expansión de células tumorales hacia órganos distantes.

Vías de señalización, oncogenes y genes supresores de tumores

Como ya se ha mencionado, la mayoría de los genes alterados en las células tumorales sirven como elementos en las vías de señalización que controlan la proliferación celular. Por el tipo de función que desempeñan en estas vías, se han dividido en dos grandes familias: los oncogenes, que actúan como aceleradores del ciclo celular y los genes supresores de tumores, que actúan como frenos.

Oncogenes y vías mitogénicas

Existen una gran variedad de factores que las activan a través de receptores de siete dominios transmembranales, como ocurre con el oncogen asociado al sarcoma de Kaposi. La proliferación también se estimula a través de receptores con dominios de cinasa de tirosina, como Her2, e incluso a través de receptores nucleares como los receptores de estrógenos, ambos ejemplos importantes en el cáncer de glándula mamaria (Fig. 3). Basta con que uno de los elementos de la vía mitogénica presente una mutación con ganancia de función para que la vía que se encuentra río abajo de estas proteínas se activen, manteniendo un estímulo proliferativo aún sin que haya mas elementos estar mutados. Al analizar los genes mutados en las vías de señalización mitogénicas emerge un patrón inesperado, no todos los productos génicos de las vías de transducción pueden ser mutados con consecuencias oncogénicas. De hecho, la mutación experimental con ganancia de función de genes como Grb2 (del inglés: growth-factor receptor binding proteín 2), de SOS (del inglés: son of sevenless) o de las cinasas dependientes de estímulos mitogénicos (MAPKs) en lugar de inducir un fenotipo oncogénico son letales (Fig. 3). En el cáncer de glándula mamaria el receptor Her2 o de estrógenos tipo alfa (ERα) suele encontrarse sobreexpresados. En contraste, otros genes de las vías mitogénicas como las proteínas acopladoras Grb2 y SOS o las enzimas de la cascada de cinasas activadas por mitógenos como (MAPK), nunca han sido identificadas como oncogenes en ningún tipo de cáncer [3, 5-7]. Ras y Raf, elementos de señalización intermedios entre el receptor y las MAP cinasas si han sido identificados como oncogenes, aunque, en el cáncer de glándula mamaria no son mutaciones frecuentes. Dentro de las mitogénicas también se encuentra la cinasa del fosfatidil-inositol 3 fosfato (PI3K) que fosforila a los fosfo-inosítidos generados por la fosfolipasa-C gama (PLCγ) y que a su vez conduce a la activación de la cinasa Akt. La vía PI3K/Aktque activa vías de sobrevivencia dependientes del factor de transcripción NF-kB e inactiva vías apoptóticas al fosforilar a la caspasa-9 y a proteínas como BAD que normalmente neutralizan proteínas antiapoptóticas como $BCLX_L$ al formar heterodímeros con ellas. La cinasa Akt con frecuencia presenta mutaciones con ganancia de función en cáncer de glándula mamaria que hacen que se interfiera con la apoptosis y se expresen genes de sobrevivencia,

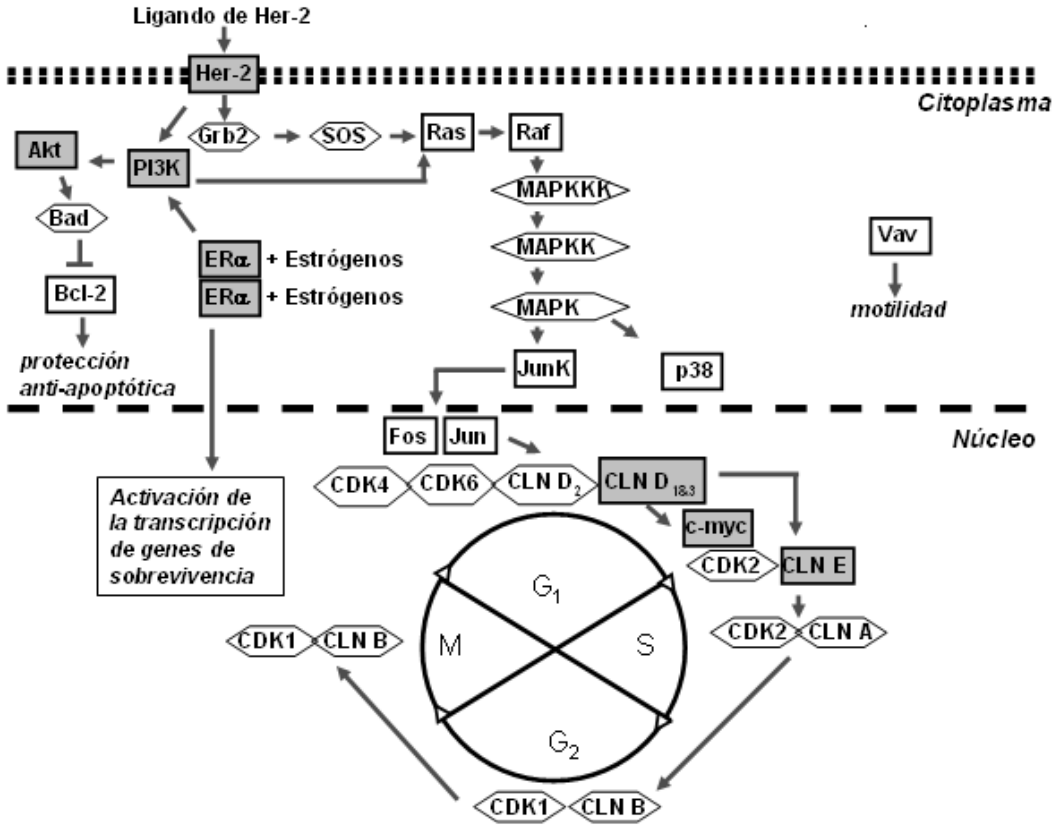

Figura 3. Esquema de la señalización de las vías mitogénicas, motilidad y apoptosis. Se presenta la vía mitogénica de la familia representada por Her2, un miembro de los receptores de la familia del factor de crecimiento epidermal. Todos los oncogenes se encuentran enmarcados en rectángulos. Los oncogenes que se encuentran mutados frecuentemente en el cáncer de glándula mamaria se encuentran en rectángulos de color gris. Los elementos de las vías mitogénicas que no son protooncogenes están enmarcados en hexágonos blancos. Los efectos inhibitorios están indicados con una línea y una barra vertical. La doble línea punteada en la parte superior representa la membrana celular, la línea punteada en la parte inferior representa la membrana nuclear. Dentro del núcleo se representa al ciclo celular. También se muestran los oncogenes Vav y Bcl-2 asociados a motilidad celular y a la protección contra la muerte celular por apoptosis, respectivamente.

Todas las vías mitogénicas converge en la activación de la cascada de MAP cinasas que conducen a la activación de enzimas como cinasa del factor de transcripción Jun (JUNK) o p38 que activan la expresión del ciclo celular gracias a la activación de los genes que codifican para las ciclinas D1, D2 y D3. Las diferentes ciclinas D se unen a las cinasas dependientes de ciclinas (CDKs) CDK4 y CDK6 que controlan la progresión de la fase G del ciclo celular. Esto promueve la expresión la ciclina E que se une a CDK2. El complejo ciclina-E/CDK2 fosforila a la proteína de retinoblastoma (Rb) lo que libera al factor de elongación de la transcripción E2F permitiendo la expresión de los genes necesarios para sintetizar desoxi-nucelótidos trifosforilados necesarios para la replicación del material genético. El complejo ciclina-E/CDK2 promueve la síntesis de la ciclina-A que unida a la misma CDK2 dirige la fase S y parte de la fase G2. A su vez el complejo ciclina-A/CDK2 promueve la expresión de la ciclina B que unida a la CDK1 dirige la última fase M con la cual termina el ciclo celular (Figuras 3 y 4). Es comprensible entonces que la sobreexpresión de las ciclinas D1, D3 y E se asocien al desarrollo del cáncer de glándula mamaria. Sin embargo, ni la ciclina D2 ni las cinasas dependientes de ciclinas CDK4, CDK6 o CDK2 se han identificado como oncogenes en este tipo de cáncer.

Se considera que todos los elementos de la vía mitogénica que no participan como oncogenes, como Grb2, SOS, las Mapas, o la ciclina D2, así como las CDKs tienen otras funciones además de su papel en el control del ciclo celular por los que sus mutaciones con ganancia de función son letales.

Genes supresores de tumores y vías antiproliferativas

En la figura 4 se presentan vías anti-mitiogenicas que explican el mecasnismo por el cual las mutaciones con pérdida de función de los genes supresores de tumores contribuye a una proliferación descontrolada y una mayor acumulación de mutaciones. Por ejemplo, la fosfatasa PTEN (del inglés: Phosphatase and tensin homologue), un gen supresor de tumores asociado a las formas hereditarias del cáncer de glándula mamaria, es el único gen que se ha identificado como antagonista de la vía activada por la cinasa PI3K. En el cáncer de glandula mamaria, las mutaciones de PTEN anulan su función, permitiendo que la vía de PI3K/Akt no pueda ser apagada eficientemente.

El factor de crecimiento transformante beta (TGF-β) es representante de una gran familia de factores con actividad antiproliferativa que se fundamenta en el hecho de que conduce a la expresión de inhibidores de los complejos ciclina/CDK. Entre los inhibidores que son inducidos por esta vía se encuentran las proteínas p21 y p27 (Fig. 4). En la vía del TGF-β los receptores tipo I y II y con los elementos de señalización Smad4 y Smad2 han sido identificados como genes supresores de tumores implicados en el desarrollo del cáncer de glándula mamaria. La disfunción de esta vía trae como resultado que no se expresen los inhibidores de los complejos ciclinas/CDKs que controlan el inicio del ciclo celular, por ende, las células carecen de un freno del ciclo y se dividen descontroladamente.

El ciclo celular se interrumpe cuando hay daño al DNA, este efecto resulta, principalmente, de la expresión de la proteína p53 que a su vez promueve la expresión del inhibidor de CDKs p21. Este bloqueo del ciclo da tiempo para que entren en acción los diferentes sistemas de reparación del material genético. La radiación genera ruptura de doble cadena del DNA, cuya reparación requiere de una serie de proteínas inducidas por radiación (RAD: radiation induced). En el sistema de reparación de daño al DNA generado por ruptura del DNA requiere de las proteínas de la familia RAD52, que reparan la ruptura por medio de recombinación homóloga con la cromátide no afectada. Los sensores de las rupturas del DNA son las proteínas ATM y NBS1, después, RAD52 y RAD51 se asocian al DNA dañado y atraen a una variedad de proteínas de la misma familia RAD para efectuar la reparación. Dentro de las proteínas que se requieren para este procesos de reparación se encuentran las proteínas codificadas por los genes supresores de tumores BRCA1 y BRCA2 (del inglés BReast CAncer gene 1 y 2 respectivamente). Estos dos genes se asocian a formas hereditarias de cáncer de glándula mamaria y en particular BRCA2 se asocia a cáncer de glándula mamaria, mientras que BRCA2 a cáncer de ovario. El gen mutado de la ataxia telangectacia (ATM) también se asocia a formas hereditarias del cáncer de glándula mamaria pero no a las proteínas asociadas RAD51 o RAD52.

Por lo anterior, en las diferentes vías de transducción participan tanto oncogenes como genes supresores de tumores que están mutados que se han identificado como genes asociados al desarrollo del cáncer.

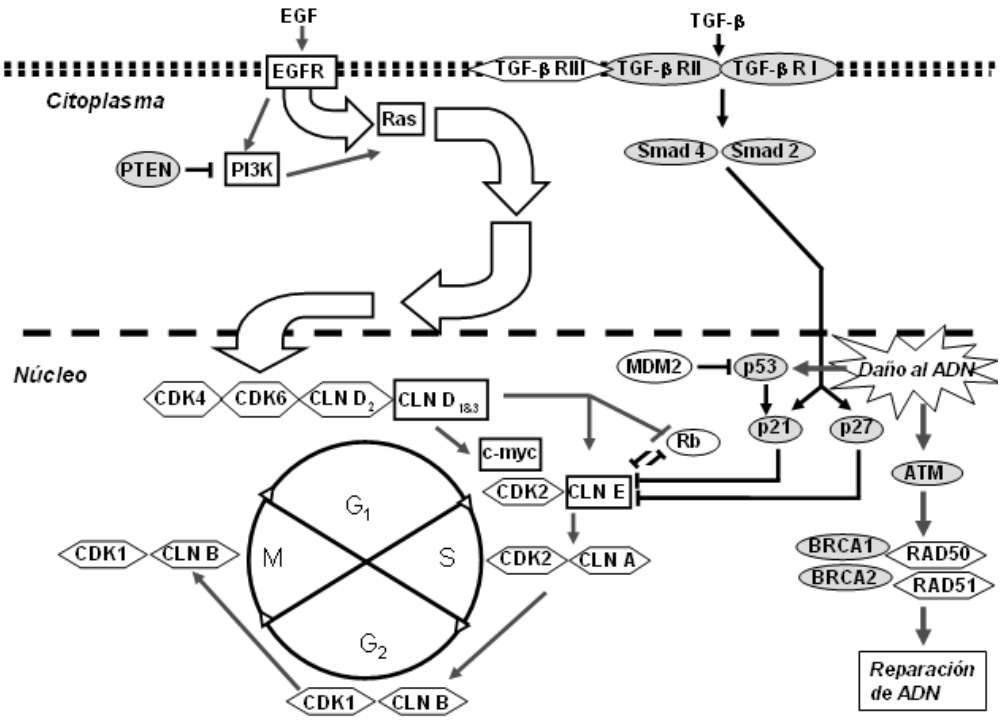

Figura 4. Esquema de la señalización de la vía antimitogénica del TGF-β. La vía mitogénica está representada por el flujo de flechas que van del factor de crecimiento epidermal (EGF) al ciclo celular. En la parte derecha del esquema está representada la vía antimitogénica del TGF-β. Los genes supresores de tumores que se encuentran mutados frecuentemente en el cáncer de glándula mamaria se encuentran en óvalos de color gris. También se muestra al gen supresor de tumores PTEN que antagoniza los efectos de PI3K (parte superior izquierda del esquema). Los efectos inhibitorios están indicados con una línea y una barra vertical. La doble línea punteada en la parte superior representa la membrana celular, la línea punteada en la parte inferior representa la membrana nuclear. Dentro del núcleo se representa al ciclo celular. También se muestran los genes supresores de tumores que participan en la reparación del daño al DNA: ATM, BRCA1, BRCA2 y RAD52 y 51.

Moléculas de adhesión intercelular

Las células que poseen capacidades invasivas y metasásicas presentan alteraciones en la expresión de diferentes clases de moléculas de adhesión que median el anclaje celular a su microambiente. Las proteínas afectadas incluyen: 1. moléculas de adhesión célula-célula (CAMs), principalmente miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas y de la familia de las cadherinas, cuya función es regular las interacciones célula-célula y 2. las integrinas, que son responsables de las interacciones célula-matriz extracelular (ECM). Todas estas interacciones de adhesión convergen en vías de señalización reguladoras en la célula [24, 25]. Una de las moléculas de adhesión comúnmente alteradas en melanomas [26] y en otros tipos de tumor (por ejemplo, cáncer de páncreas, de glándula mamaria, gástrico y colorectal, entre otros) [27-29] es la E-cadherina, una molécula homotípica dependiente de Ca^{2+}, responsable de las interacciones célula-célula. Esta proteína se presenta en forma ubicua en las células epiteliales (de donde deriva su clasificación como de tipo “E”). Se ha observado que en muchos carcinomas humanos se disminuye o pierde la expresión o la función de la E-cadherina, como un cambio temprano durante el desarrollo de la progresión metastásica. Esta disminución facilita que las células tumorales se liberen de los contactos de adhesión de las células vecinas y se separen del tejido y de la masa tumoral primaria. Estudios *in vitro*, han indicado que deleciones del dominio

citoplásmico de E-cadherina resultan en una pérdida funcional de la adhesión célula-célula y en un incremento de la movilidad celular. Por otro lado, estudios *in vivo* han indicado que en la mayoría de los tumores de origen epitelial, se pierde la función de la E-cadherina a través de mecanismos que incluyen mutaciones en la región codificante del gen, inactivación del promotor por hipermetilación, o por proteólisis del dominio extracelular y/o citoplasmático de la proteína [30]. Por medio de su dominio intracelular las cadherinas interaccionan con el citoesqueleto de actina a través de adaptadores como las cateninas alfa y beta. La beta catenina en particular juega un papel central ya que actúa como un factor de transcripción. Cuando las células pierden contacto intercelular, la beta catenina se libera y se trasloca al núcleo donde promueva la expresión génica y la proliferación. Esto explica porque mutaciones en el gen de la beta catenina también se encuentran asociadas a este tipo de tumores [31]. La beta catenina juega un papel particularmente importante en la vía de señalización del sistema de receptores WNT/receptores de lipoproteínas en el desarrollo de cáncer de colon. La sobreexpresión de E-cadherina en células de melanoma en cultivo y en modelos de ratones transgénicos, disminuye la capacidad invasiva y de metástasis del tumor, mientras que su inactivación incrementa ambas capacidades [31]. Debido a ello, se ha propuesto que la E-cadherina funciona como un supresor de invasión y metástasis en canceres epiteliales, y su eliminación funcional representa un paso necesario en la adquisición de esta capacidad [32]. A pesar de lo esperado, las mutaciones en E-cadherina son infrecuentes en los diferentes tipos de cáncer incluyendo el cáncer de glándula mamaria, por tanto se considera que los cambios en su expresión son cambios epigenéticos o adaptaciones transitorias de las células invasivas.

Por otra parte, los cambios en la expresión de integrinas y su afinidad por moléculas de la superfamilia de las inmunoglobulinas o por componentes de la ECM, por ejemplo, laminina, colágena, fibronectina, y vitronectina, también son evidentes en células invasivas y metastásicas. Las integrinas son proteínas heterodiméricas que consisten de dos subunidades (α y β) unidas entre sí de manera no covalente. Cada subunidad presenta un dominio extracelular, un dominio transmembranal, y un dominio citoplásmico no catalítico. En algunos tumores la expresión de ciertas integrinas se incrementa, mientras que en otros disminuye.

En cáncer de colon y glándula mamaria, se ha observado una reducción en la expresión y una distribución alterada de las subunidades de las integrinas (α1, α6, β1, β4, o α5β1). Estas subunidades actúan como receptores de colágena, fibronectina y laminina [33-36].

Los distintos microambientes invadidos influyen en las respuestas de las células malignas. De acuerdo con esto, la colonización exitosa de estos nuevos sitios, tanto distantes como locales, requiere de una adaptación que es lograda a través de cambios en el espectro de las subunidades y de las integrinas, las cuales son expresadas por las células invasoras.

Las células de carcinoma facilitan la invasión mediante un cambio en la expresión de sus integrinas. Así, por ejemplo el cambio de integrinas α1β2 que se unen a la matriz constitutiva de la lámina basal cambia por integrinas α3β1 y αvβ3 preferencialmente a los nuevos componentes de matriz extracelular generados por proteasas extracelulares de las células invasivas [36, 38]. La sobreexpresión de las integrinas normales de la familia β2 en las células tumorales bloquea la formación de metástasis, resaltando la importancia del tipo de integrinas que expresa la célula metastásica para su diseminación [35, 38].

El papel de las metaloproteasas de matriz en la invasión y metástasis

En los últimos años, ha aumentado considerablemente el interés en identificar aquellas moléculas involucradas en la degradación proteolítica de la matriz extracelular. Durante el proceso de invasión, las células tumorales tienen que cruzar la matriz intersticial que está compuesta de glicoproteínas, proteoglicanos y proteínas filamentosas. Uno de los principales hallazgos ha sido la participación de diversas cascadas de reacciones proteolíticas en los

procesos de invasión y metástasis [28]. En dichas cascadas participan cuatro clases de proteasas: serin-, cistil-, aspartil-, y metalo-proteasas de matriz (MMPs), siendo estas últimas las más estudiadas, debido a su participación en el paso inicial de la degradación de la matriz extracelular [39].

El rompimiento de las láminas basales y la invasión del espacio intersticial requiere de proteasas de diversas calses, que desde hace ya muchos años han sido estudiadas en células de diversos tipos de cáncer. La gran mayoría de las proteasas son sintetizadsa y secretadas en forma de zimógenos inactivos, una excepción son las metaloproteinasas (MMPs) que contienen la secuencia RXKR (Arg-X-Lys-Arg) como la estromelisina-3 y las MT-MMPs Todos los demás zimógenos inactivos son activados en el medio extracelular por un sistema activador de plasminógeno o por otro miembro de la familia de las MMPs. Las MMPs activas están bajo una estricta regulación por inhibidor tisular de las MMPs (TIMPs) o por α_2-macroglobulina del plasma en una estequiometria 1:1. El balance entre los activadores y los péptidos inhibitorios de las proteasas presentes en el ambiente extracelular determina normalmente los procesos de mantenimiento y la reparación de las matrices extracelulares [39].

Las primeras observaciones acerca de la importancia de las MMPs en la invasión y la metástasis fueron realizadas por Liotta [38], al reportar que una enzima secretada por células de melanoma era capaz de degradar colágena, un componente de las láminas basales. Este descubrimiento fue seguido por numerosos estudios que indican una correlación entre la expresión de MMPs en tumores y su capacidad de invasión y de generar metástasis; por tanto, se ha demostrado un incremento en la expresión de MMP-2 (gelatinasa A, 72 kDa) y de MMP-9 (gelatinasa B, 92 kDa) en diferentes tumores humanos. Ambas MMPs, tienen sus actividades más elevadas en relación al de la colágena tipo IV, el principal constituyente de las láminas basales. Es interesante que a pesar de que existen 9 MMPS han sido la MMP-2 y la MMP-9 las que se encuentran sobreexpresadas con mayor frecuencia en células invasivas.

Otras proteínas que presentan un incremento en diferentes tumores son las colagenasas intersticiales, las estromelisina 2 y 3, la matrilisina, y la MT1-MMP [39, 41]. Todas estas enzimas son capaces de degradar moléculas de matriz extracelular (por ejemplo, laminina, fibronectina, y vitronectina, entre otras), proteoglicanos, glicoproteínas y varios tipos de colágena. Además, las células tumorales invasivas también expresan metaloproteasas asociadas a la membrana celular que activan a la gelatinasa B y funcionan como receptores para la gelatinasa A, induciendo de manera eficiente la proteólisis de las proteínas de matriz en toda la zona donde las células hacen contacto (zona pericelular) [42]. En algunos casos el nivel de expresión de estas MMPs se ha correlacionado con el grado de progresión tumoral o estado clínico [39].

Inicialmente se creía que el papel principal de las MMPs era facilitar el rompimiento de las barreras físicas del tejido, promoviendo así, la invasión y entrada de las células tumorales hacia la circulación sanguínea y/o linfática. Sin embargo, recientemente se ha mostrado que las MMPs y sus inhibidores participan en otras etapas de la progresión tumoral. La expresión de estromelisina-1 (MMP-3) en la glándula mamaria epitelial es suficiente para inducir el desarrollo de tumores tipo mesenquimales invasivos y esta transición puede ser bloqueada por TIMP-1 [40-42]. Recientemente ha sido posible montar una preparación de venas mesentéricas donde un lente de microscopio permite registrar las imágenes de las células circulantes, ya sea por microscopía de luz visible o incluso con microscopía de fluorescencia. Esta técnica, denominada videomicroscopia intravital ha permitido mostrar que las MMPs beta también son importantes en la creación y el mantenimiento de un ambiente que contribuye al inicio y crecimiento de tumores primarios como en focos metastáticos. Este efecto puede estar mediado por el procesamiento y la liberación de factores de crecimiento asociados con la matriz extracelular como es el caso del TGF-□ o del FGF básico o del receptor RAGE (del inglés receptor for advanced glycation end products) [43].

Serina-proteasas

Dentro de la familia de las MMPS se encuentran serina-proteasas que a su vez incluyen a los activadores de plasminógeno. Estos están directa e indirectamente involucrados en la degradación de la matriz extracelular. Los activadores de plasminógeno son proteasas que convierten específicamente el plasminógeno inactivo a plasmina activa, una enzima que tiene una amplia especificidad de sustratos. A través de la plasmina, los activadores de plasminógeno pueden degradar indirectamente una amplia variedad de proteínas, incluyendo fibrina, fibronectina, colágena tipo IV, vitronectina y laminina [44]. La plasmina también tiene la capacidad de activar colagenasa latente y pro-activadores de plasminógeno [45].

Existen dos tipos de activadores de plasminógeno, el activador de plasminógeno tipo urocinasa (uPA) y el activador de plasminógeno tipo tisular (tPA). El tipo urocinasa está involucrado directamente en la degradación de proteínas de matriz extracelular durante procesos de remodelación tisular fisiológica y patológica [46, 47]. Por otro lado, el plasminógeno tipo tisular es una enzima que está involucrada en la disolución de coágulos en los vasos sanguíneos y en el mantenimiento de la homeostasis vascular [48, 49]. Sin embargo, el papel que desempeña el tPA en el desarrollo del cáncer es controversial. Se sabe que este tipo tisular de plasminógeno está ausente en la metástasis de glioblastoma, así como en tumores de colon, pulmón y mama [50, 51]. En el caso de uPA se ha detectado un incremento en su actividad en tumores primarios así como en metástasis de melanoma. La distribución del uPA sobre la membrana celular no es homogéneo encontrándose principalmente en el denominado frente invasivo, que corresponde a los lamelipodios que extienden las células tumorlaes al avanzar [28].

Por otro lado, en muchos tumores las proteasas que degradan la matriz extracelular, no son producidas por las células tumorales sino por células del estroma y por células inflamatorias [52] Estas proteasas una vez liberadas, pueden ser manipuladas por células tumorales. De esta forma, las células tumorales pueden inducir la expresión de uPA y su subsiguiente unión al receptor de superficie uPAR produciendo la activación proteolítica del plasminógeno [53-55]. Esta proteasa, como ya se menciono, es capaz de degradar varios componentes de la matriz extracelular directa o indirectamente a través de la activación de metaloproteasas, las cuales subsecuentemente degradan colágenas y otras proteínas de matriz intersticial y de las membranas basales, tales como laminina y fibronectina [56].

Locomoción Activa

Un requisito para que las células tumorales invadan el tejido circundante y la matriz extracelular (ECM) es tener la capacidad de extenderse hacia otros tejidos, también llamada “locomoción activa”. Para poder realizarlo las células tumorales utilizan mecanismos de migración similares, si no idénticos, a los que ocurren en células normales durante procesos fisiológicos tales como morfogénesis embrionaria, cicatrización de una herida y durante el tráfico de células inmunes [57]. Estudios recientes indican que la deprivación de oxígeno podría incrementar la capacidad de motilidad de células tumorales. Se ha encontrado que la hipoxia incrementa la expresión de genes asociados a la migración celular, tales como c-Met, una proteína-receptor que incrementa la motilidad e invasión celular por medio de la unión a su ligando, el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) [58]. El oncogen vav, que actúa como una proteína de andamiaje, a la que se unen diferentes efectores de señalización, activa a las proteínas G pequeñas Rac y CD48, que incrementan el recambio del citoesqueleto de actina, un paso esencial para la locomoción activa. En el cáncer de glándula mamaria vav no se encuentra mutado con frecuencia.

Intravasación, arresto y extravasación

Después de haber cruzado exitosamente la matriz extracelular, las células tumorales entran al sistema vascular para diseminarse hacia nuevos órganos, un paso denominado intravasación. Este paso requiere de una secuencia coordinada de proteólisis y locomoción activa. Evidencia reciente indica la existencia de diferencias importantes en la intravasación de células metastásicas y no-metastásicas dentro de un tumor primario. Se ha observado que las células metastásicas se orientan y se elongan hacia los vasos sanguíneos, mientras que las células no-metastásicas se asocian aleatoriamente, y su elongación es independiente de la posición de los vasos sanguíneos. Esto sugiere que la orientación celular puede ser inducida por quimioatracción de los vasos sanguíneos [59].

El análisis estructural de tumores primarios sugiere que, la entrada directa de células tumorales a los vasos sanguíneos está confinada a pequeñas venas, a esta red vascular se le denomina microvasculatura postcapilar. Otros vasos, como las grandes venas, también pueden ser invadidas, pero la invasión arterial es un evento raro [58]. Existen reportes donde se ha demostrado que en algunos tumores (por ejemplo, sarcomas), la sangre es trasportada por hendiduras vasculares, las cuales están revestidas por células tumorales, más que por un endotelio. En estos tumores, la invasión no requiere de la degradación previa de las láminas basales. Sin embargo, el proceso de disociación tumoral deberá ser apoyado por la acción de enzimas proteolíticas [58, 61]. En algunos sitios anatómicos y/o en algunos tumores desdiferenciados, las láminas basales pueden ser muy delgadas y estar desprovistas de colágena [62]. Por ejemplo, en el pulmón, el grosor combinado del epitelio alveolar, lámina basal, y endotelio capilar es de solo 100 μm. Además, la neovasculatura tumoral tiende a ser discontinua y persentar aperturas (endotelio fenestrado) por lo que es débil y presenta fácilmente hemorrágia, debido en parte a la sobreproducción de VEGF [63]. Asimismo, la intravasación en estos vasos puede requerir mucha menos degradación que la intravasación en vasos normales [62]. Las células tumorales también pueden entrar a la circulación sanguínea en las conexiones linfático-venosas, después de haber entrado a los capilares linfáticos. Interesantemente, ninguna de estas estructuras presenta láminas basales [60]. Sugino y su grupo mostraron que, en algunos modelos, las células metastásicas pueden ganar acceso a los vasos sanguíneos por intravasación de “nidos de células tumorales” rodeados por células endoteliales vasculares, seguido por un crecimiento intravascular del tumor sin la penetración de la pared vascular [63].

En diferentes estudios se ha encontrado que la eficiencia de la invasión vascular tiene un gran impacto en el curso que sigue la progresión metastásica. Es decir, pacientes a los cuales se les detecta invasión de vasos sanguíneos o linfáticos durante la cirugía tienen un peor pronóstico que pacientes sin invasión vascular [74].

Después de haber entrado a la vasculatura, las células tumorales agregadas o individuales evaden diferentes mecanismos de la respuesta inmune (por ejemplo, la acción de linfocitos T y B, neutrófilos, macrófagos y células asesinas NK), y del ambiente vascular, como turbulencia o el sistema de complemento. El flujo sanguíneo o linfático arratra a las células metastásicas pasivamente hacia órganos y tejidos distantes donde formarán lesiones secundarias. Como ya se mencionó al principio se propone que las células se arrestan en el las venas postcapilares de los órganos blanco. Las células metastásicas se adhieren a las células endoteliales (EC) y a la lámina basal subendotelial, que puede estar expuesta [43, 65, 66].

Observaciones recientes realizadas con microscopia intravital, sugieren que las metástasis se originan a partir del crecimiento intravascular de células tumorales adheridas al endotelio más que de células extravasadas [65-68]. Estos resultados resaltan la importancia de la adhesión intercelular en la metástasis tumoral. No obstante, para que esto se lleve a cabo, se requiere que el endotelio pase de su estado basal o de reposo a u estado activado. Este cambio fenotípico, normalmente presente en la reacción inflamatoria, permite expresar en la superficie

apical del endotelio moléculas de adhesión necesarias para la interacción heterotípica célula tumoral endotelial y que sirve de base para la extravasación tumoral [69-71, 73].

Después de la interacción célula tumoral-endotelio, las células metastásicas se extienden a lo largo de la pared vascular para posteriormente extravasarse hacia el parénquima de los órganos blanco donde finalmente proliferarán mediante pasos secuenciales de proteólisis, adhesión célula-sustrato y locomoción activa. Estos procesos que se llevan a cabo de manera similar a como se realizaron durante los procesos de intravasación e interacción con la matriz extracelular [73, 74].

Cáncer de glándula mamaria

A partir de las observaciones realizadas por Beatson en 1896 sobre la regresión del cáncer de glándula mamaria en pacientes sometidas a la remoción de los ovarios, quedó clara la dependencia hormonal de la enfermedad. Estudios posteriores revelaron que la dependencia hormonal no es un fenómeno generalizado en el cáncer de glándula mamaria, ya sólo entre el 25 y el 40% de los tumores responden favorablemente a la remoción de los ovarios [75]. Esto llevó a la búsqueda de marcadores biológicos que permitieran identificar a este grupo de pacientes con formas de cáncer dependientes de estrógenos y/o progesterona, con lo que se desarrollaron los ensayos inmunohistoquímicos para la identificación de los receptores de estrógenos (ER) y de progesterona (PgR). A partir de este momento, la identificación histopatológica de estos receptores en cáncer de glándula mamaria ha sido una herramienta muy importante en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento [75]. Existen dos isoformas del receptor de estrógenos denominados alfa (de 595 aminoácidos) y beta (con 530 aminoácidos). Comparado con la isoforma ER-alfa, el ER-beta carece de 53 aminoácidos en su extremo amino y 12 en su extremo carboxilo. Normalmente, la isoforma alfa se expresa en los órganos sexuales femeninos incluyendo la glándula mamaria, mientras que la isoforma beta sólo se expresa significativamente en el ovario y en los órganos sexuales masculinos y algunas áreas del sistema nervioso central. La isoforma alfa es la que comúnmente se encuentra en las pacientes con formas de cáncer de glándula mamaria dependiente a hormonas. En la figura 5A se esquematiza la estructura del receptor de estrógenos con sus dominios de unión.

Los receptores de estrógenos actúan tanto a nivel transcripcional promoviendo la expresión de genes que median los efectos a largo plazo como la expresión sostenida de inhibidores de las caspasas como la proteína inhibidora de la apoptosis (IAP-1), así como a nivel citoplásmico, activando cascadas de señalización dependientes de cinasas que median las respuestas inmediatas como la activación de la vía mitogénica. La función como factores de transcripción dependen de la interacción a su ligando en el citoplasma, lo que favorece la unión a los elementos de respuesta a estrógenos (EREs) en el DNA y también a su interacción con co-activadores de la transcripción como SRC-1, SRC-2 o SRC-3 (del inglés *Steroid Recepor Co-activato*r), CEBP/p160 (CCAAT/enhancer binding proteín). En la figura 5B se esquematiza la unión de un dímero del ER a su ERE y su interacción con coactivadores o SERM (selective estrogen receptor modulator). Estos coactivadores reclutan acetil-transferasas que acetilan residuos de lisinas de las histonas (HATs: hisone acetil-transferases) y a los complejos de remodelación de la cromatina SWI/SNF. Paralelamente, estos co-activadores disminuyen la unión de desacetilasas de histonas (HDACs; histone de-acetilase complexes). Todo esto trae como consecuencia un relajamiento de la cromatina favoreciendo la unión de los factores generales de la transcripción y la RNA polimerasa II, con lo que incrementa la frecuencia de inicio de la transcripción [74]. Es interesante notar que recientemente se han identificado mutaciones en la proteína BAF57 asociados al cáncer de glándula mamaria que reducen la interacción entre el ER-beta y los complejos SWI/SNF. La proteína BAF 57 forma parte del núcleo estructural de los complejos de remodelación de la cromatina SWI/SNF, Los efectos citoplásmicos de los receptores a estrógenos, incluyen el incremento de la proliferación celular, y son dependientes de la activación de la fosfatidil inositol 3-cinasa (PI3K) y de la cascada de

cinasas dependientes de mitógenos (MAPKs). Estos efectos citoplásmicos requieren del coregulador del ER denominado proteína tipo 1 rica en prolina, ácido glutámico y leucina (PELP1/MNAR), que median la interacción entre el ER y sus efectores citoplásmicos como PI3K (77). La dependencia hormonal parece ser un fenómeno complejo que incluye no sólo un estímulo mitogénico sino también la expresión de genes que permiten evadir principalmente estímulos apoptóticos [75-77].

Originalmente, la identificación del receptor de estrógenos es de utilidad en la práctica oncológica y su presencia indica un mal pronóstico. Sin embargo, hoy en día esto ha cambiado gracias al uso de antiestrógenos como el tamoxifen en pacientes de cáncer de glándula mamaria, que suele tener efectos favorables contribuyendo a una regresión del tumor. La adminitración de anti-estrógenos no resulta eficaz si se administran por periodos prolongados.

El desarrollo de antagonistas de estrógenos llevó a la aplicación de tamoxifen y sus derivados. Estos compuestos se unen al sitio de unión al ligando y permiten la unión del receptor a los elementos de respuesta, pero bloquean la interacción con los coactivadores, por lo que estos compuestos previenen o bloquean la expresión de genes dependientes de estrógenos. Aún se desconoce si existe interferencia con los efectos citoplásmicos, pero es claro que interfiere con la activación de las cinasas dependientes de mitógenos y por tanto con la proliferación celular [77]. En la figura 5C se muestran las estructuras del estradiol y del tamoxifen.

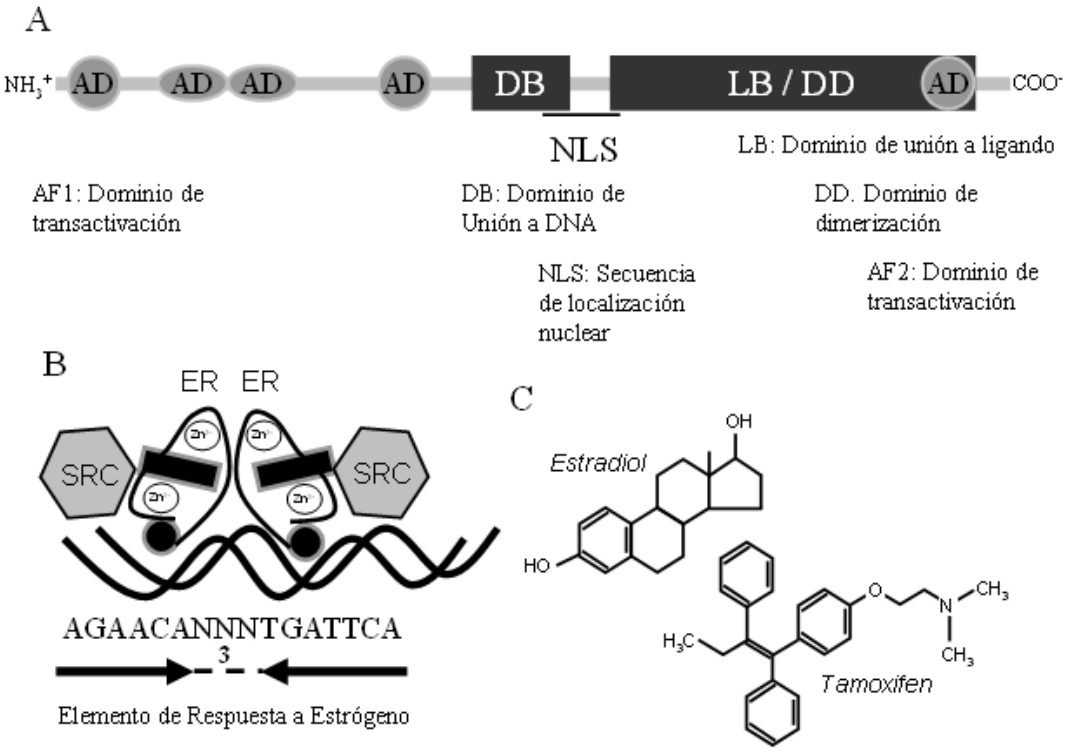

Figura 5. A) Estructura del receptor de estrógenos indicando los diferentes dominios proteicos que lo constituyen. B) Esquema que muestra la unión de un dímero de receptor de estrógenos unido a su secuencia consenso en el DNA y su interacción con coactivadores de receptores de hormonas esteroides (SRCs) El elemento de respuesta a estrógenos corresponde a la secuencia de DNA a la que se une el receptor de estrógenos. En la secuencia de nucleótidos NNN corresponde a cualquiera de los cuatro nucelótidos. C) Fórmulas desarrolladas del estradiol y de su antagonista, el tamoxifen

Nuevas terapias en el cáncer de glándula mamaria

La quimio y radioterapias convencionales seguidas de procedimientos quirúrgicos son eficaces en los estadios I y II pero pierden eficiencia con los estadios más avanzados. Por tanto se han buscado nuevas estrategias terapéuticas, apoyadas en los conocimientos moleculares que se han generado en los últimos años.

La sobreexpresión del receptor del factor de crecimiento Her-2, como un marcado de mal pronóstico, ha llevado a buscar posibles mecanismos de inhibición de este sistema. Por una parte se han generado anticuerpos neutralizantes del receptor que previenen su activación (trastuzumab). Estos anticuerpos se aplican como una nueva terapia complementaria al taxol o la vinblastina para debilitar al tumor previo a su remoción quirúrgica. Una estrategia alterna ha consistido en generar inhibidores tanto del dominio de cinasa de HER2-Neu como del dominio de cinasa del receptor de PDGF, que también se activa en este tipo de cáncer. Otra perspectiva terapéutica la constituyen los inhibidores de farnesil- y geranil-transferasas como el R115777, que se requieren para la actividad del oncogén ras durante los estímulos mitogénicos y el uso de anticuerpos neutralizantes del factror de crecimiento vascular (VEGF) como bevasizumab o avastin [78]. Habrá que esperar los resultados de los estudios en curso con estas posibles terapias blanco para definir su valor terapéutico en el cáncer de glándula mamaria.

Conclusión

El cáncer de glándula mamaria es un creciente problema de salud pública en nuestro país. Las células de cáncer de glándula mamaria se derivan en su inmensa mayoría de los epitelios ductales o lobulillares. Como en el resto de las enfermedades oncológicas una detección temprana suele tener un buen pronóstico si recibe el tratamiento de quimio- y/o radio-terapia adecuado; los procedimientos quirúrgicos actuales también tienen una alta probabilidad de curación. La elevada taza de mortalidad del cáncer de glándula mamaria en nuestro país se debe principalmente a formas invasivas y metastásicas de la enfermedad. Algunas formas hereditarias se asocian a la sobreexpresión de las ciclinas D1, D3 y E. Uno de los ocnogenes asociados a desarrollo de la enfermedad es el receptor HER2/Neu de la familia del receptor del factor epidermal. En formas avanzadas de la enfermedad suelen encontrarse formas mutadas de ras y la amplificación de c-myc. También se asocia a genes supresores de tumores como p53, ATM, BRCA1, BRCA2 y PTEN. A pesar de los grandes avances en la comprensión de las bases moleculares asociadas al desarrollo del cáncer, aún son pocas las aplicaciones útiles en el tratamiento. Por ejemplo, la expresión del receptor de estrógenos, que originalmente resultaba en un mal pronóstico, hoy puede tener un mejor pronóstico gracias al uso de antagonistas como el tamoxifen. Pacientes con amplificación de HER2/neu hoy pueden ser tratadas con anticuerpos neutralizantes de la actividad mitogénica del receptor. En este momento las herramientas de mayor impacto parecen estar en el campo de la salud pública, como el diseño de campañas orientadas a la detección y atención temprana del cáncer de glándula mamaria, y así prevenir su progresión a formas invasivas de muy difícil tratamiento o a formas metastásicas que se consideran incurables.

Agradecimientos: El Dr. Alejandro Zentella Dehesa agradece la minuciosa y excelente participación de los revisores: la Dra. Ma. Cristina Castañeda Patlán, la Dra. Erika Rendón Huerta y la Dra. Isabel Velázquez López para lograr la versión final del trabajo.

Referencias

1. Ma X, Tucker MA (2005). Epidemiology of Cancer. En: Cancer: principles & practice of oncology, 7ª edición; DeVita V Jr, Hellman S, Rosenberg S editores. Editorial Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia EUA.
2. Briton L, Lacey J Jr, Devesa SS (2002). Epidemiology of breast cancer. En: Cancer of the Breast 5a edición, Donegan WL & Spratt JS editores. Editorial Saunders, Saint Louis Missouri EUA. pp 111-132.
3. Bishop MJ, Hanafusa H (1996). Proto-oncogens in normal and neoplasic cells. En: Molecular Oncology, Bishop M & Weinberg RA editores. Editorial: Scientific American Inc, New York, EUA. pp: 61-84.
4. Leis JF, Livingston DM (1996). The tumor suppressor genes and their mechanism of action. En: Molecular Oncology, Bishop M & Weinberg RA editores. Editorial: Scientific American Inc, New York, EUA. pp: 111-142.
5. Hanahan D, Weinberg RA (2000). The hallmarks of cancer. Cell 100:57-70.
6. Hahn W, Weinberg RA (2002). Modelling the molecular circuitry of cancer. Nature Reviews Cancer 2:331-341.
7. Weinberg RA (2001). Cancer: a genetic disorder. En: The molecular basis of cancer 2ª edición, Mendelson J, Howley PM, Israel MA, Liotta LA editors. Editorial WB Sounders Company. pp: 3-9.
8. Fearon ER, Vogelstein BA (1990). A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell 61: 759-767.
9. Fidler IJ (2002). Critical determinants of metastasis. Seminars in Cancer Biology 12:89-96.
10. Elenbaas B, Spirio L, Koerner F, Fleming MD, Zimonjic DB, Donaher JL, Popescu NC, Hahn WC, Weinberg RA (2001). Human breast cancer cells generated by oncogenic transformation of primary mammary epithelial cells. Genes Develop 15:50-65.
11. Van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, Dai H, Hart AA, Voskuil DW, Schreiber GJ, Peterse JL, Roberts C, Marton MJ, Parrish M, Atsma D, Witteveen A, Glas A, Delahaye L, van der Velde T, Bartelink H, Rodenhuis S, Rutgers ET, Friend SH, Bernards R. (2002). A gene-expressions signature as a predictor of survival in breast cancer. New England Journal of Medicine 347:1999-2009.
12. Chang HY, Nuyten DS, Sneddon JB, Hastie T, Tibshirani R, Sorlie T, Dai H, He YD, van't Veer LJ, Bartelink H, van de Rijn M, Brown PO, van de Vijver MJ (2005). Robustness, scalability, and integration of a wound-response gene expression signature in predicting breast cancer survival. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 102:3738-3743.
13. Johnson JP (1999). Cell adhesion molecules in the development and progression of malignant melanoma. Cancer Metastasis Rev 1:345-357.
14. Wai PY, Cuo PC (2004). The role of osteoponin in tumor metastastis. J Surg Res 121:228-241.
15. Schackert G, Fidler IJ (1988). Site-specific metastasis of mouse melanomas and a fibrosarcoma in the brain and meninges of syngeneic animals. Cancer Reserach 48:3478-3484.
16. Fidler IJ (1995). Modulation of the organ microenvironment for the treatment of cancer metastasis. Journal of the National Cancer Institutue 84:1588-1592.
17. Van't Veer LJ, Dal H, Van de Vijver MJ, He YD, Hart AAM, Mao M, Petersen HL, van der Kooy K, MartonMJ, Witteven AT, Schreiber GJ, Kerkhoven RM, Roberts C, Linsley PS, Bernards R, Friend SH (2002). Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. Nature 415:530-536.
18. Ramaswamy S, Ross KN, Lander ES, Golub TR (2003). A molecular signature of metastasis in primary solid tumors. Nature Genetics 33:49-54.
19. Kang Y, Siegel PM, Shu W, Drobnjak M, Kakonen SM, Cordón-Cardo C, Guise TA, Massagué J (2003). A multigenic program mediating breast cancer metastasis to bone. Cancer Cell 3:537-549.
20. Poste G, Fidler IJ (1980). The pathogenesis of cancer metastasis. Nature 283:139-146.
21. Hunter K, Welch DR, Liu ET (2003). Genetic background is an important determinant of metastatic potential. Nature Genetics 34:23-24.
22. Auerbach R, Alby L, Morrissey W, Tu M, Joseph J (1985). Expression of organ-specific antigens on capillary endothelial cells. Microvasculature Research 29:401-411.
23. Liotta LA (2001). An attractive force in metastasis. Nature 410:24-25.
24. Campbell SL, Khosravi-Far R, Rossman KL, Clark GJ, Der CJ (1998). Increasing complexity of Ras signaling. Oncogen 17:1395-1413.
25. Aplin AE, Howe A, Alahari SK, Juliano RL (1998). Signal transduction and signal modulation by cell adhesión receptors: the role of integrns, cadherins inmunoglobulin-cell adhesion molecules, and selectins. Phamacological Reviews 50:197-263.
26. Giacotti FG, Ruoslahti E (1999). Integrin signaling. Science 285:1028-1032.

27. Johnson JP (1999). Cell adhesion molecules in the development and progression of malignant melanoma. Cancer Metastasis Review 18:345-357.
28. Beherns J (1999). Cadherins and catenins: role in signal transduction and tumor progression. Cancer Metastasis Review 18:15-30
29. Kurschat P, Mauch C (2000). Mechanisms of metastasis. Clinical and Experimental Dermatology 25:482-489.
30. Keleg S, Büchler P, Ludwig R, Büchler MW, Friess H (2003). Invasion and metastasis in pancreatic cancer. Molecular Cancer 2:14-20.
31. Strathdee G (2002). Epigenetic versus genetic alterations in the inactivation of E-cadherin. Seminar in Cancer Biology 12:373-379.
32. Christofori G, Semb H (1999). The role of the cell-adhesion molecule E-cadherin as a tumor suppressor gen. Trends in Biochemical Sciences 24:73-76.
33. Birchmeier W, Behrens J (1994). Cadherin expression in carcinomas: role in the formation of cell junctions and the prevention of invasiveness. Bichemical and Biophysical Acta 1198:11-26.
34. Hirst R, Horwitz AF, Buck C, Rohrscheinder L (1986). Phosphorylation of the fibronectin receptor complex in cells transformed by oncogenes that encoded tyrosine kinases. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 83:6470-6474.
35. Plantefaber LC, Hynes RO (1989). Changes in integrin receptors on oncogenic cell. Cell 56:281-290.
36. Varner JA, Cheresh DA (1996). Integrins and cancer. Current Opinion in Cell Biology 8:724-730.
37. Mizejewski GJ (1999). Role of integrins in cancer: survey of expression pattern. Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine 222:124-138.
38. Lukashev ME, Werb Z (1998). ECM signaling: orchestrating cell behaviour and misbehaviour. Trends in Cell Biology 8:437-441.
39. Hood JD, Cheresh DA (2002). Role of integrins in cell invation and migration. Nature Review Cancer 2:91-99.
40. Stetler-Stevenson WG, Yu AE (2001). Proteases in invasion: matrix metalloproteinases. Seminar in Cancer Biology 11:143-152.
41. Liotta LA, Abe S, Robey PG, Martin GR (1979). Preferential digestion of basement membrane collagen by an enzyme derived from a metastatic murine tumor. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 76:2268-2272.
42. Nelson AR, Fingleton B; Rothenberg ML, Matrisian LM (2000). Matrix metalloproteinases: biological activity and clinical implications. Journal of Clinical Oncology 18:1135-1149.
43. Yamamoto M, Mohanam S, Sawaya R, Fuller GN, Seiki M, Sato H, Gokaslan ZL, Liotta LA, Nicolson GL, Rao JS (1996). Differential expression of membrane type matrix-metalloproteinase and its correlation with gelatinase A activation in human malignant brain tumors in vivo and in vitro. Cancer Research 56:384-392.
44. Chambers AF, MacDonald IC, Schmidt EE, Koop S, MorrisVL, Khoka R, Groom AC (1995). Steps in tumor metastasis: new concepts from intravital videomicroscopy. Cancer Metastasis Reviews 14:279-301.
45. Roldan AL, Cubellis MV, Masucci MT, Behrendt N, Lund LR, Dano K, Apella E, Blasi F (1990). Cloning and expression of the receptor for human urokinase plasminogen activator, a central molecule in cell surface, plasmin dependent proteolysis. EMBO Journal 9:467-474.
46. Liotta LA, Goldfard RH, Brundage R (1991). The effect of plasminogen activators (urokinase), plasmin and trombin on glycoprotein and collagenous components of basement membrane. Cancer Research 41:4629-4636.
47. Saksela O, Rifkin DB (1988). Cell-associated plasminogen activation: regulation and physiological functions. Annual Review in Cell Biology 4:93-126.
48. Blasi F (1993). Molecular mechanisms of protease-mediated tumor invasiveness. Journal of Surgery and Oncology, Supplement 3:21-23.
49. Bachmann F, Kuithf IE (1984). Tissue plasminogen activator: chemical and physiological aspects. Seminar in Thrombosis and Hemostasis 10:6-17.
50. Gething MJ, Adler B, Bosse IA, Gerard RD, Madison EL, McGookey D, Meidell RS, Roman LM, Sambrook J (1988). Variants of tissue type plasmiogen activator that lacks specific structural domains of heavy chain. EMBO Journal 7:2731-2740.
51. Hajjar KA, Hamel NM (1990). Identification and characterization of human endothelial cell membrane binding-sites for tissue plasminogen activator and urokinase. Journal of Biological Chemistry 265:2908-2916.
52. Saito K, Nagashima M, Iwata M, Hamada H, Sumiyoshi K, Takada Y, Takada A (1990). The concentration of tissue plasminogen activator and urokinase in plasma with ovarian and uterin tumors. Thrombosis Research 58:355-366.

53. Werb Z (1997). ECM and cell surface proteolisis: regulating cellular ecology. Cell 91:439-442.
54. Stoppeli MP, Corti A, Soffientini A, Cassani G, Blasi F, Assoian RK (1985). Differentiatoin enhancer binding of the amino-terminal fragment of human urokinase plasminogen activator to a specific receptor on U937 monocytes. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 82:4939-4943.
55. Vassalli JD, Baccino D, Belin D (1985). A cellular bindin site for the Mr 55,000 form of the human plasminogen activator, urokinase. Journal of Cellular Biology 100: 86-92.
56. Foekens JA, Peters HA, Look MP, Portengen H, Schmitt M, Kramer MD, Brünner N, Jänicke F, Meijer-van Gelder ME, Henzen-Logmans SC, van Putten WLJ, Klijn JGM (2000). The urokinase system of plasminogen activation and prognosis in 2780 breast cancer patients. Cancer research 60:636-643.
57. Mignatti P, Rifkin DB (1993). Biology and biochemistry of proteases in tumor invation. Physiological Reviews 73:161-195.
58. Lauffenburger DA, Horwitz AF (1996). Cell migration: a physically integrated molecular process. Cell 84:359-369.
59. Pennacchietti S, Michieli P, Gallazo M, Mazzone M, Giordano S, Comoglio PM (2003). Hypoxia promotes invasive growth by transcriptional activation of the met proto-oncogene. Cancer Cell 3:347-361.
60. Wyckoff JB, Jones JG, Condeelis JS, Segall JE (2000). A critical step in metastasis: in vivo analysis of intra-vasation at the primary tumor. Cancer Research 60:2504-2511.
61. Weiss L (1989). Biomechanical destruction of cancer cells in skeletal muscle: a rate-regulator for hematogenous metastasis. Clinical and Experimental Metastasis 7:483-491.
62. Weiss et al, 1983.
63. Weidner N (2002). New paradigm for vessel intra-vasation by tumor cells. American Journal of Pathology 160:1937-1939.
64. Sugino T, Kusanabe T, Hoshi N, Yamaguchi T, Kawaguchi T, Goodison S, Sekimata M, Homma Y, Susuki T (2002). An invasion–independent pathway of blood-borne metastasis: a new murine mammary tumor model. American Journal of Patholgy 160:1973-1980.
65. Gabbert HE, Meier S, Gerharz CD, Hommel G (1991). Incidence and prognostic significance of vascular invasion in 529 gastric cancer patients. International Journal of Cancer 49:203-207.
66. Thorlacius H, Prieto J, Raud J, Gautam N, Patarroyo M, Hedqvist P, Lindbom L (1997). Tumor cell arrest in the microcirculation: lack of evidence for a leucocyte-like rolling adhesive interaction with vascular endothelium in vivo. Clinical Immunology and Immunopathology 83:68-76.
67. Glinsky GD (1998). Anti-adhesion cancer therapy. Cancer Metastasis Reviews 17:177-185.
68. Orr FW, Wang HH (2001). Tumor cell interactions with the microvasculature: a rate-limiting step in metastasis. Surgical Oncology Clinics of North America 10:357-381
69. Al-Mehdi AB, Tozawa T, Fisher AB, Shientag L, Lee A, Muschel RJ (2000). Intravascular origin of metastasis from the proliferation from endothelium-attached tumor cells: a new model for metastasis. Nature Medicine 6:100-102.
70. Lollini PL, De Giovanni C, Nocoletti G, Bontadini A, Tazzari PL, Landuzzi L, Scotlandi K, Nanni P (1990). Enhancement of experimental metastatic ability by tumor necrosis factor alfa alone or in combination with interferon gamma. Clinical and Experimental Metastasis 8:215-224.
71. Orosz P, Echtenacher B, Falk W, Rüschoff J, Weber D, Männel DN (1993). Enhancement of experimental metastasis by tumor necrosis factor. Journal of Experimental Medicine 177:1391-1398.
72. Stoelcker B, Hafner M, Orosz P, Nieswandt B, Männel DN (1996). Role of adhesion molecules and platelets in TNF-induced adhesion of tumor cells to endothelial cells: implications for experimental metastasis. Journal of Inflammation 46:155-167.
73. Müller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan M, McClanahan T, Murphy E, Yuan W, Wagner Sn, Barrera JL, Mohar A, Verástegui E, Zlotnik A (2001). Involvment of chemokine receptor in breast cancer metastasis. Nature 410:50-56.
74. Engers R, Gabbert HE (2000). Mechanisms of tumor metastasis: cell biologic al aspects and clinical implications. Journal of Cancer research and Clinical Oncology 126:682-692.
75. Chang M, Liu H, Jordan VC (2002). Hormonal and growth factors. En: Cancer of the Breast 5a edición, Donegan WL & Spratt JS editores. Editorial Saunders, Saint Louis Missouri EUA. pp:417-444.
76. Butt Aj, MacNeil CM, Musgrove EA, Sutherland R (2005). Downstream targets of growth factor and oestrogen signaling and endocrine resistance: the potential roles of c-myc, cyclinD1 and cyclin E. Endocrine-Related Cancer 12:S47-S59.
77. Nair S, Vadlamudi RK (2007). Emerging significance of ER-corregulator PELP-1/MNAR in cancer. Histolgy and Histopatology 22:91-96.

78. Kaklamani V, O´Regan MR (2004). New targeted terapias in breast cancer. Seminars in Oncology 31:20-25.

Semblanza del Dr. Alejandro Zentella Dehesa



Nació en 1957 y creció en el seno de una familia de maestros normalistas de primaria y secundaria. En 1976 inició la carrera de biología experimental en la UAM-Iztapalapa y paralelamente se inició en la investigación en bioquímica bajo la dirección del Dr. Enrique Piña Garza, en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM donde inició su vida académica en la UNAM como ayudante de profesor. Sus primeros trabajos se enfocaron al estudio de las alteraciones de la ureagénesis en el hígado prefundido asociados a la intoxicación alcohólica. En 1991 pasó un año con el Dr. Lourival D. Possani en el Instituto de Investigaciones Biomédicas donde participo en proyectos dedicados a la síntesis de péptidos en fase sólida ingresó al doctorado en bioquímica en la Universidad Rockefeller en Nueva York bajo la dirección del Dr. Anthony Cerami con una beca de la Universidad Rockefeller. Obtuvo su doctorado en bioquímica (PhD) en junio de 1989 con su trabajo dedicado al estudio de la activación de ciclos inútiles en cultivos de músculo esquelético de rata expuestos a la cacectina/factor de necrosis tumoral alfa (TNF). De 1989 a 1993 obtuvo su entrenamiento posdoctoral bajo la dirección del Dr. Joan Massagué en el Departamento de Biología Molecular y Celular del Memorial Sloan Kettering Cancer Center en Nueva York con una beca del Howard Huges Medical Institute. Ahí realizó estudios de ciclo celular estudiando las posibles aplicaciones anti-tumorales del factor de crecimiento transformante beta. En 1993 gracias al apoyo del Dr. Antonio Peña Díaz y del Dr. J. Adolfo García Sainz ingresó al Departamento de Biología Celular del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM como investigador titular. Ahí se desarrolló como investigadro independiente y estableció sus líneas de trabajo sobre apoptosis, activación de células endoteliales humanas y la activación del sistema NF-kB. En 2004 con el apoyo de los Dres. Fernando Gabilondo Navarro, J. Adolfo García Sainz, Juan Pedro Laclette y Maria Eugenia Gonsebatt Bonaparte se transfirió al Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM como jefe de la unidad periférica Guillermo Soberón Acevedo y encargado del Departamento de Bioquímica del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Ahí a continuado su trabajo sobre las interacciones funcionales y físicas del endotelio vascular y células metastásicas de cáncer de glándula mamaria. En los últimos años su trabajo se ha centrado en la comprensión de las bases moleculares de las disfunciones celulares asociadas al cáncer de glándula mamaria. Cuenta con 42 artículos de investigación publicados en revistas internacionales indizadas, 17 revisiones, editoriales y comentarios en revistas nacionales, 7 capítulos de libros y 23 participaciones ponencias y 93 carteles en congresos nacionales, 20 carteles en congresos internacionales y 72 conferencias por invitación. Hasta el 2001 sus publicaciones internacionales habían sido citadas más de 2000 veces en la literatura científica de su área. Ha dirigido 3 tesis de licenciatura, 5 de maestría y 5 de doctorado. Ha sido cotutor de 100 alumnos de posgrado de la UAM, del CINVESTAV y de la UNAM. Ha impartido 33 cursos especializados, de licenciatura y posgrado y ha participado como profesor invitado en 41 cursos de posgrado. Ha sido miembro estudiante y numerario de la Sociedad Mexicana A.C. de Bioquímica (SMB) desde 1979 y a fungido como secretario tesorero de la misma. Ha sido presidente de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica A.C., y es miembro del comité editorial de la Revista de Educación Bioquímica. También es miembro del Sistema Nacional de Investigadores (SIN-nivel II) y de la Academia Nacional de Medicina.