

## CANCER DE LA MAMA

Por: Dr. Roberto Garola

Todos nosotros estamos conscientes que el problema de cáncer es el problema de salud más importante que existe en este momento, no solamente en Puerto Rico, sino en el mundo entero. Yo específicamente voy a hablar de un cáncer determinado, un cáncer que aflige mucho a la mujer, mucho menos que al hombre puesto que la incidencia en el hombre es de 1% del total de todos los cánceres de la mama. Y además de hablar del cáncer de la mama es que voy a hablar específicamente de la relación que hay entre el cáncer de la mama y hormonas. Como iremos viendo con el correr de la charla vamos a notar que todavía vamos a atonizarnos un poquito más y vamos a hablar de la importancia que tiene esto en este momento en el diagnóstico, en el pronóstico y en la predicción terapéutica del cáncer de la mama.

Desde fines del siglo pasado, 1846 cuando un investigador inglés que se llamaba Bickson presentó un "paper" en la revista "Lanzet" publicando los dos primeros casos de curación temporaria en el cáncer de mama avanzado por ovariectomía, se comienza a relacionar el cáncer de la mama con las hormonas. De ahí hasta aproximadamente la década del '40, se siguió usando la ovariectomía como tratamiento del cáncer de la mama. Luego de hacer un análisis estadístico generalizado de las experiencias

de muchas personas, sin embargo, se pudo determinar de que la ovariectomía no era evidentemente la solución para afectar el cáncer de la mama. Cuando yo hablo de ovariectomía estoy hablando de la extirpación bilateral de los ovarios. Fue entonces que un grupo de investigadores americanos se avocaron a seguir esta línea de estudio y propusieron algún otro tipo de tratamiento que estuviese relacionado con este primer tratamiento presentado o demostrado, demostrando la aplicabilidad "in situ" por Birkson casi 100 años antes. Entonces aparecen en la escena de este problema Hench que recibió el premio nobel por este tipo de estudio, sobre todo por el tratamiento de cáncer de próstata usando adrenalectomía en animales de experimentación, que se propone el uso de adrenalectomía, es decir sacar las dos glándulas suprarrenales, con el mismo propósito que se sacaban antes los ovarios. Siempre la mujer tiene actividad ovárica hasta los 48 años, es evidente que el cáncer de la mama se produce o tiene una incidencia después de esa edad. Por lo tanto, aparentemente, después de los 48 años los estrógenos producidos por los ovarios no son importantes, de ahí a que a Hench se le prendió la lamparita y propuso la adrenalectomía, es decir la extirpación de las glandulas adrenales en forma bilateral. Como ustedes saben estamos hablando de glándulas que son productoras de hormonas esteroideas. Hasta ese momento no se había caracterizado, o no se sabía exactamente, que tipo de hormona era la que tenía importancia en ese grupo de mujeres que se había determinado estadísticamente respondía al tratamiento hormonal. Aunque estudios experimentales demostraban

que las hormonas más importantes en juego eran los estrógenos y en segundo lugar la progesterona, los investigadores pusieron mucho menos énfasis en la progesterona que en los estrógenos. Posiblemente en el '55 o '56, Lord Oliver Krona dice, "Bueno si las adrenales producen estrógeno y los ovarios producen estrógeno porque no sacar las glándulas que están controlando la secreción de estrógeno tanto en las adrenales como en los ovarios". Entonces proponen la hipofisectomía y obtienen resultados muy buenos. Es decir que cuando digo resultados muy buenos en cáncer de la mama estoy hablando de un tratamiento temporero, una paliación temporera de la enfermedad.

Yo creo que todos somos adultos y tenemos que tener consciencia de que cáncer de la mama no es una enfermedad que se cure. El cáncer de la mama es una enfermedad que se trata, y eso es lo que vamos a ver en gran parte de esta charla. Precisamente tanto es lo que la tecnología moderna está haciendo, que el cáncer de la mama está empezando a ser como otros tipos de cáncer, una enfermedad crónica y a lo mejor menos dañina que la diabetes o que la hipertensión o alguna cardiopatía cualquiera. Lo que pasa es que lo que fue en la edad media la tuberculosis, en este siglo es el cáncer, el tabú. Entonces todo el mundo escucha a quien tiene cáncer y piensa: "Esta persona está frita", y eso no es verdaderamente cierto. Yo creo que es mucho más riesgoso andar por la calle en este momento sobre todo por allá por el Condado o por Río Piedras que tener cáncer, sobre todo tener

cáncer de la mama. Por eso le decía que no había que tomarlo como una palabra tabú por todo lo que vamos a ver ahora. Si vemos la primera diapositiva, observaremos que las experiencias obtenidas son las siguientes: tanto sacando los ovarios en las pre-menopáusicas, como sacando las adrenales, como sacando la hipófisis, o como dando tratamiento hormonal aditivo, ya sea estrógeno, andrógenos, progestágenos o glucocorticoides, se obtiene un porcentaje de remisión de la enfermedad aproximadamente de el 30 ó 40%. Es decir que los tres tipos de tratamiento en uso endocrino hasta la actualidad, y en relación con lo que estábamos hablando, estaban produciendo un por ciento de remisión. Es decir que de entrada tenemos dos poblaciones de cáncer de la mama: una que va a responder y otra que no va a responder al tratamiento endocrino.

El grupo inglés, el grupo de Burgurt fue el más interesado en la década del '50 en determinar por métodos diagnósticos previos, cual iba a ser ese grupo que iba a responder al tratamiento endocrino para no hacer cirugía inútilmente, es decir para evitar todos los problemas que la cirugía tiene, ya sea desde el punto de vista de salud concreto, como el punto de vista de trastornos sociales que estos problemas producen. No creo necesario aclarar que el cáncer es una enfermedad social, todos ustedes saben lo que enfermedad social significa. Entonces estamos en ese 30 ó 40% de remisión tratando, un grupo de ingleses

encabezado por Burgurt, de ver qué posibilidad existe de hacer el diagnóstico previo a indicar un tratamiento. Y ellos empiezan a ver que hay ciertos metabolitos en las hormonas esteroideas, específicamente en la etiocolanolona que en ciertos cánceres está aumentando en la sangre. Como si en algunos pacientes hay una alteración en el metabolismo de las hormonas y en otros no. Burgurt plantea que haciendo una recesión entre diferentes metabolitos de las adrenales se podría determinar o predecir la respuesta al tratamiento endocrino. Se hace ese tipo de experiencia y Burgurt fracasa en demostrar lo que él pretendía. Aunque ha demostrado o debe quedar en la historia como demostrado, eventos epidemiológicos muy importantes. Él correlacionó la presencia de estos metabolitos en poblaciones de muy baja incidencia de cáncer de la mama, por ejemplo en el Japón. Vio que evidentemente la población de mujeres japonesas tiene niveles de etiocolanolona más bajos que la población blanca sobre todo de origen caucásico, que es la que predomina en los lugares que nosotros vivimos.

Pero insisto que todo esto quedó en la nada y queda en la nada hasta que a comienzos de la década del 60 se empieza a conocer el mecanismo de reacción de las hormonas. Es decir desde la década del 60 se sabe que las hormonas interactúan con sus órganos "target", interactúan específicamente. Es decir que no solamente es necesario tener la hormona circulando

sino que es necesario tener una proteína transportadora de hormonas esteroideas circulando en la sangre y además, es necesario que las células sean receptoras a la hormona.

Por ejemplo, yo puedo inyectar estrógeno o cualquier tipo de hormona a cualquiera de los que estamos aquí presentes y no todos van a responder a esa hormona, por qué? Porque el mensaje que esa hormona lleva está esperándolo una especie de buzón celular que va a decir: "la carta que vos traes me la vas a dejar aquí", a la hormona transportadora, no es cierto?, y de esa forma esa carta va a enviar ese mensaje y va a desencadenar una serie de eventos dentro de la célula. Entonces, este es el modelo que se acepta en la actualidad para el mecanismo de acción de las hormonas polipéptidas. Las hormonas ustedes bien saben que se clasifican en polipéptidas, esteroides y aminas. Aparentemente las tres hormonas actúan de forma diferente intracelularmente hablando, aunque esto es muy discutido, es decir esto está en contra de lo que planteaba Erlich y yo por supuesto creo más en Erlich que lo que se hace en la actualidad. No que lo que se haga en la actualidad este mal hecho sino porque los investigadores antiguos tenían mucha más posibilidad, es decir tenían mucha mayor cosmovisión de la que tenemos nosotros. Fíjese que yo soy médico y no sé un pepino de lo que acaba de hablar el Dr. García Castro, y estoy seguro que él sabe un pepino de lo que yo estoy hablando, es decir estamos en las mismas. Si sabemos cosas generales, pero no cosas

específicas en cambio investigadores de antaño tenían una cosmovisión mucho más amplia. Por empezar para formarse se formaban como se formaban los filósofos griegos, es decir se pasaban cuarenta años al lado del maestro para que les enseñe algo, entiende? Nosotros no podemos, ya que cada vez tenemos una carrera que dura menos tiempo por qué?, porque estamos apurados por obtener el título, etc. Tanto es así que el otro día leo el último "News in Medicine" que me llegó, parece que están por sacar las ciencias básicas de la carrera de medicina, la van a dejar en dos años nada más. Y eso es el colmo, es decir los estudiantes de medicina que no saben nada de biología, no van a saber fisiología, ni biología, ni nada. Entonces esto viene en relación y explicándole el porqué yo creo mucho más en la categorización o en las postulaciones de gente que tenía una cosmovisión mucho más amplia como la de Erlich que la que podemos tener en este momento.

Erlich decía que toda partícula o toda sustancia que interacciona con un tejido lo hace a través de la membrana. Pero vamos a ver como eso cambia en este modelo de interacción de la membrana celular que se acepta solamente en la actualidad y por lo cual Southerland recibió el premio nobel. Se hace a través de la interacción de un polipéptido con un sitio regulador de una enzima que es la adenilciclase. Esta está dentro de la membrana acoplada a otro sitio catalítico que pone en juego una reacción que todos ustedes, los que estudian biología deben conocer, que es la conversión de ATP en AMP, cíclico. El AMP, cíclico, ¿qué es lo que va a hacer?

Va a desencadenar una serie de eventos intracelulares que van desde la activación de una quinasa, que es otra proteína, que va a activar una fosforilasa, una fosforilasa que va a activar una reacción que a su vez tiene que ver con la acción biológica específica de la célula, estamos hablando de hormonas polipeptídicas

Vamos a ver que es lo que pasa con las hormonas esteroideas, que es un poquito más complejo y ahí vienen los grandes problemas de la interacción. Es decir se sabe, por métodos indirectos, no por métodos directos. Cuando hablo de métodos indirectos estoy hablando de métodos bioquímicos, no de métodos morfológicos y ahí puede estar el artefacto. Cuando uno hace bioquímica pone mil cosas artificiables en juego, quiero decir los sistemas, los diseños que uno utiliza no son los ideales. Este tipo de conocimientos se sabe o se conoce a través de lo que se llama "Cell Free System", en inglés o Sistema Celular despedazado. Es decir usted abre una célula, la rompe toda con un homogenizador, separa la membrana celular, separa la mitocondria, separan la lisosoma, separan el núcleo y logra determinar a base de eso a qué lugar viene y se une la hormona. ¿Qué puede pasar cuando ustedes están homogenizando? Puede haber una serie de artefactos, por qué?, porque la homogenización la hacen de una forma tremendamente riesgosa para lo que puede ser el tejido. Es un concepto muy importante que tiene que ver también, por ejemplo, con la microscopía electrónica. Una vez que el microscopio electrónico ve el ribosoma, y dice que un ribosoma es una cosita



redonda que tiene dos subunidades, una más grande y otra más chiquita, eso puede ser un artefacto. Un artefacto que se produce en el momento que se está produciendo la preparación de la célula, claro nosotros lo vemos como una cosita redonda o dos cositas redondas, la sub-unidad cuanto y la sub-unidad tanto, pero a lo mejor no es eso. Así podría pasar una cosa similar con los métodos bioquímicos, aunque insisto a pesar de que yo haga bioquímica, yo creo que todo este tipo de estudio debe tener corroboración morfológica. No obstante lo que se acepta hasta este momento es este nuevo modelo que lo propone Jensen, el modelo de las dos etapas. Elwood Jensen fue el americano que descubrió el receptor a base de unos estudios previos hechos por ingleses también. El grupo de Jeffrow en Glasgow que fueron los pioneros de este tipo de estudio. Ahora para que vean ustedes la importancia que tiene la tecnología en todo este tipo de estudio, no fue posible hasta que no se consiguieron hormonas marcadas de alta actividad específica. Es decir para determinar todo este tipo de cosa es necesario marcar la hormona con algún isótopo por ejemplo en este caso específico, todo se hace con hormonas marcadas con isótopos en la interacción celular. Entonces, los esteroides, que están representados aquí por los rombos, entrarían a la célula por difusión, aparentemente porque el peso molecular es mucho menor que el de los péptidos, eso es lo que dice un grupo. Clara Sedo de California que es una investigadora realmente sensacional dice todo lo contrario. Está peleada con este dogma y vive peleándose. Yo creo que lo de

Clara Sedo hay que demostrarlo, puesto que esto "in situ", puede tener artefacto. La hormona entraría por difusión simple o sea que la hormona tendría posibilidad de entrar a cualquier tejido, la membrana ustedes saben que tiene una capa proteica y una capa lipídica. Los esteroides bioquímicamente se clasifican entre los lípidos e interaccionan con el receptor (En este caso el objeto está representado por dos sub-unidades). Una vez que el receptor se une, ese complejo se activa; esa activación hace que el complejo se trasloque hacia el núcleo, como pasa la membrana nuclear no lo sabe nadie; pasa la membrana nuclear e interacciona. Esto es una representación de una célula de mamíferos por supuesto. Aquí no tiene nada que ver la regulación genética por gen, por operon lac o sistemas similares, sino simplemente la depresión producida por la zona del DNA que las envolturas histónicas han dejado libres. Ese complejo interactúa con sitios específicos del DNA, que se llaman "aceptores" y de esa forma transcriben el ácido ribonucleico mensajero (mRNA) que va a pasar al citoplasma nuevamente y va a producir la actividad biológica específica de la hormona esteroide, de la hormona de la cual estamos hablando.

¿Qué relación tiene esto con el cáncer de la mama?

Bueno si el cáncer de la mama responde a las hormonas, si el cáncer de la mama por los estudios clínicos que habíamos visto anteriormente, se regresa después de ovariectomía, que son productoras de estrógeno, a Jensen se le ocurrió pensar: "Bueno

si responden a los estrógenos ese grupo del 30 ó 40% de tumores, deben tener receptores, ya que es necesario para que la actividad biológica de la hormona se produzca, que la célula tenga receptores". Jensen busca los receptores y claro, basándose en las características fisicoquímicas, se empiezan a hacer los estudios de receptores y se encuentran receptores de cáncer de la mama, receptores para estrógeno. Ahora, qué es un receptor? Un receptor es una cosa de lo más eterea (como a mí me dicen siempre mis compañeros "a voz te gustan las cosas que no se ven"). Realmente el receptor no se ve, a pesar de que por métodos indirectos fisicoquímicos se sabe que es una proteína, un tetramero, de un peso molecular aproximadamente de 400,000 y que se puede, aprovechando esos métodos fisicoquímicos, estudiarla. Es decir si es un receptor, la capacidad de "binding", de unir, es específica. La capacidad de "binding" tiene que ser finita, no infinita. Por ejemplo, el doctor habló de albumina que tiene miles de sitios de unión para esteroides, pero no es específica. En cambio, lo que es específico se va a saturar. Entonces si ustedes hacen una curva como la que estaba arriba y determinan estradiol marcado unido a la hormona, señalando en el eje de la abscisa a la concentración que estamos usando estradiol, podemos ver que tenemos una curva de saturación, es decir una curvita que primeramente hace una ascendencia y después entra en un plateau (meseta). ¿Qué quiere decir? Que aunque vamos agregando hormonas, no se une más. Me entienden, al no unirse más quiere decir que estamos viendo la capacidad finita de "binding". ¿Cómo podemos determinar algunas características físico-bioquímicas de la proteína? Bueno valién-

donos de un antiguo método, que fue publicado en 1948, Haciendo un análisis de ploteo, una gráfica donde relacionamos lo unido, en el eje de las abscisas, y en el eje de las ordenadas, lo unido sobre lo libre. De esa forma vamos a tener, tomando esos puntitos que están en la curva de saturación una línea, una pendiente que nos va a dar la constante de disociación de la proteína sobre la constante de disociación del receptor, es decir de la unión que se ha hecho ligando con el receptor. Entonces, la constante de disociación de la proteína es bien, bien baja. Quiere decir que es bien específica, bien afin, es del orden de  $10^{-10}$  molar. Es decir, si yo pongo  $10^{-10}$  molar y tengo paredes, proteínas, focos, vidrios, una serie de cosas, la hormona va a ir directamente al receptor, no va a ir a la proteína, porque a esa concentración el receptor es muy afin y la captura. Entonces con esa gráfica se puede determinar primero la constante de disociación de la proteína y luego se puede determinar dónde la pendiente cruza el eje de las abscisas, los números de sitio de unión. Es decir que estamos cuantificando, cuantificando los sitios de unión, que tiene mucha importancia para la actividad biológica; donde se produce esa intercepción hacemos la cuantificación. Aquí no está marcada. Ahora es éste el único método que se puede utilizar? Bueno este es uno de los métodos, es el método más simple y este otro método que podemos utilizar que ustedes también lo deben conocer, el análisis de una proteína utilizando gradientes de sucrosa, de glicerol, lo que fuese. Ustedes saben que la proteína tiene una dimensión, es una proteína estructural, es

una cosa que tiene forma, con una dimensión y peso molecular determinado. Así que nosotros lo ponemos a centrifugar en un gradiente de sucrosa, vamos a obtener proteína en diferentes lugares del tubito que pusimos a centrifugar. Entonces evidentemente si agarramos un tubito y le ponemos hormonas frías, sin isotopos radioactivos, para competir, vamos a obtener una curva como la de los puntitos redondos abajo donde no hay "binding". ¿Por qué no hay "binding"? Porque lo que nosotros estamos midiendo es la hormona marcada. La hormona marcada solamente la pusimos donde vemos esos picos que nos están determinando esas áreas que enmarcan el sitio que ha sido competido con todo el resto, que nos están determinando el receptor. Es decir esto es simplemente para saber otra forma en la que se puede determinar receptor, utilizando los medios fisicoquímicos.

Ahora, sirve para algo el receptor, sirve para lo que Jensen planteaba que es lo que tal vez más le interesa a ustedes? Bueno después de 10 años de experiencia el grupo de McGuire con el que yo he trabajado en San Antonio, Texas ha hecho una reunión de todos los grupos que estaban haciendo ese tipo de estudio y correlacionando la remisión que se obtenía, haciendo tratamientos endocrinos por supuesto, cuando se usaban diferentes tratamientos. Evidentemente como ustedes podrán ver en la columna de receptor de estrógeno positivo, cuando la célula tiene estrógeno y receptores estrogénicos, ustedes pueden encontrar que un 55% del total de tumores responde. Sin embargo, cuando el receptor de estrógenos es negativo prácticamente la respuesta se da en valores muy bajos,

un 16%. En este momento se están haciendo mucho más sofisticadas las técnicas y uno puede determinar con mucha mayor exactitud la predicción de la respuesta. ¿Qué importancia tiene ésto? Muchísima, en primer lugar ya se conoce y eso es uno de los objetivos de la ciencia: determinar las causas y los efectos de las cosas. Antes se determinaba la dependencia hormonal en forma empírica, había que operar previamente para saber de acuerdo a los resultados si el paciente tenía dependencia hormonal o no. Es como el caso del doctor, antes había que ver el niño mongólico para decir este es un mongólico. En cambio ahora él puede decir con anterioridad, "señora, usted va a tener un mongólico". Bueno aquí también, aquí se puede empezar, aunque esto de 55% no es en absoluto lo ideal. Vamos a ver lo que se hizo después. Ya se puede decir: "señora, a usted le vamos a hacer una castración, si, le vamos a hacer una ovariectomía", o, "una suprarrenalectomía o una adrenalectomía o una hipofisectomía o le vamos a dar otro tipo de cosas como veremos posteriormente". En cambio antes no se podía hacer esto y de ahí surgen otro tipo de cosas como veremos a continuación. Este es el modelo postulado por Jensen, es decir que no es nada más que lo que habíamos dicho anteriormente, pero tal cual es, el esquema que Jensen presentó al principio.

Entonces, si nosotros nos ponemos a pensar que una hormona esteroidea interactúa con su receptor y nos ponemos a pensar en términos médicos, qué pasaría si ponemos algo en el medio que bloquee la interacción del receptor con la hormona?

Es decir lo que sería una anti-hormona, una anti-estrógeno, ¿para qué? Bueno ya nos evitaríamos hacer las operaciones. Ovariectomía no es nada no, yo quisiera ver una mujer con los problemas siquiátricos, psicológicos que traen una ovariectomía en una mujer para que ustedes sepan la dimensión que tienen esto. Bueno, ya la adrenalectomía, para que ustedes se den cuenta, es una operación de aproximadamente tres horas con grandes riesgos quirúrgicos y ni que hablar de la hipofisectomía que ustedes pueden hacer desvandes tremendos en las zonas que rodean a la hipófisis. Entonces se postuló o empezaron a aparecer drogas antiestrogénicas. Estas drogas antiestrogénicas nosotros la empezamos a estudiar a principio, fuimos de los primeros grupos que la estudió, que estudió esta droga en Argentina. Los médicos que están aquí presentes saben lo que es clomifeno. Clomifeno es una de esas drogas que se usan como fertilizantes y cuando las mujeres no se embarazan les dan eso para que empiecen a ovular. Precisamente el mecanismo por el que ovulan es porque actúa a nivel hipotalámico, una actividad antiestrogénica y liberan la gonadotropina, y la gonadotropina estimula el ovario para que la mujer ovule. Son esos casos que ustedes ven en el New York Times o donde fuese, de que después de un tratamiento nacieron siete, ocho, diez o quince, cada día nacen más. Es decir, de un solo saque, si la mujer nunca se embarazó y un día le dieron una de estas drogas y ¡pa! sale con quintillizos o trillizos, o mellizos una cosa así. Bueno, clomifeno nosotros lo empezamos a usar en Argentina,

hicimos un ensayo clínico y obtuvimos como ustedes podrán ver una respuesta, eso quiere decir, el tipo de tejido que ha respondido: tejido blando y tejido óseo. Y aclaro que todo tratamiento endocrino detiene el cáncer genialmente, y hasta que no se conocían todas estas cosas se usaban en los cánceres avanzados. Pero, como podrán ver aquí, de 50, el total estudiado, 19 han respondido, lo que da aproximadamente un 39% del total. Es decir que andamos cerca o estamos más o menos en el porcentaje que se conseguían con las castraciones o con las adrenalectomías. Entonces, ya fíjense el conocimiento del receptor, el conocimiento del antiestrógeno, y como podemos jugar con ese tipo de cosas lo que nos ha producido. Es decir nos ha producido la posibilidad de evitar las operaciones en los cánceres de mama.

Antes de seguir con esto quiero aclarar una cosa que tiene mucho que ver con la ciencia y esto es un Simposio de Ciencia. Aquí nosotros usamos clomifeno, claro el clomifeno es una droga que está producida por un laboratorio americano. A los laboratorios americanos no les interesa que el clomifeno se promocióne para el uso del cáncer de la mama, entonces en Estados Unidos usan una droga que se llama Eptamofisen. Si ha habido un arreglito entre los de clomifeno y los de Eptamofisen. En Estados Unidos ustedes ven que usan Eptamofisen y por qué el Eptamofisen? Y se preguntan ¿por qué? Es un anti-estrógeno, pero hay otros no? Es decir que les han puesto en la cabecita y las dos orejeras



usar Eptamofisen y no otro ¿por qué? Porque la compañía que lo produce le conviene venderlo y promocionarlo para el tratamiento del cáncer de la mama. Por supuesto para eso se había arreglado antes con la compañía esta para decir no, clomifeno no lo promocionamos, ustedes promocionan al clomifeno como fertilizante, no para ser usado en el tratamiento de cáncer de la mama. Y como los que hicimos el trabajo somos unos Argentinos sub-desarrollados de allá de Sudamérica, bueno pobre de nosotros, no tenemos ninguna posibilidad. Pero los pobres sub-desarrollados fueron considerados cuando se hizo un "review". Algunos grupos han usado el clomifeno y el grupo nuestro, que estaba dirigido en ese momento por el que era jefe mío, el doctor Eckert, ustedes podrán ver que fue el que mejor resultado obtuvo. Eso no quiere decir que nosotros hayamos trabajado mejor, puede ser que nosotros hayamos evaluado en forma diferente los casos. Para saber que es una remisión en una enfermedad, hay que ser muy estricto. Es decir, yo por ejemplo les puedo hablar de una paciente, bueno yo he visto muchas pacientes de cáncer de la mama, que le hacíamos una adrenalectomía. Realmente los resultados de la adrenalectomía en los siete primeros días son espectaculares en casi todos los casos, pero la mejoría es subjetiva, es decir la paciente le dice "Hoy me siento muy bien tengo apetito, tengo todo eso", pero eso no quiere decir que la paciente haya mejorado. Desde el punto de vista científico hay que demostrar la remisión de la enfermedad de aquellos grupos de investigadores que ha usado parámetros similares.

Nosotros hemos usado las postulaciones del grupo Europeo, porque el "paper" se había publicado en una revista europea. Claro si uno lo manda a lo europeo con una evaluación que provenga de NIH, los europeos le dicen esto no sirve. Lo mismo pasa aquí, si uno lo manda a una revista en Estados Unidos con una evaluación europea le dicen el "paper" no sirve. Es decir que en ciencia también ocurren esas cosas, y si estamos en un simposio de ciencia tenemos que saber todo ese tipo de cosas. Por eso nosotros evaluamos nuestros pacientes bajo un protocolo organizado por el grupo de europeos de estudio del cáncer de la mama y de anti-estrógeno. No obstante, otros grupos de Estados Unidos han usado otros anti-estrógenos como la anafosimina y eptamofisen y todos, es decir el clomifeno, la anafoximina y eptamofisen, han dado resultados similares, pero le insisto el que se usa en la actualidad es el eptamofisen. Yo tengo experiencia con el clomifeno y las complicaciones que he visto son mínimas pero han sido exageradas. Ocasiona calores, debido a la liberación de gonadotropinas, es el mismo cuadro que se ve en el climaterio femenino, pero ninguna otra complicación importante.

Y seguimos viendo y seguimos analizando todo lo que hemos visto de hormonas, receptor, antihormona. Podemos postular que el anti-estrógeno actúa a nivel competitivo, es decir compitiendo por el receptor para que el estradiol no se una. Pero resulta que en estos momentos se sabe, y eso yo he trabajado en la Universidad de Texas. Se sabe que el anti-estrógeno hace lo mismo que el estrógeno y si usted no le pone un poquito más de

dosis es exactamente igual a un estrógeno. Así que estamos como cuando empezamos, tenemos que reevaluar todo el asunto y ver realmente qué es lo que pasa con los anti-estrógenos. Fíjense que lo que yo pienso es que la actividad o la acción debe ser similar puesto que también, y eso es paradójico, los cánceres de mama responden al tratamiento con grandes dosis de estrógeno. Uno se pone a pensar, claro algo debe pasar, lo que podría estar pasando es que las dosis sean críticas. Es decir, que a una dosis baja el estrógeno produce crecimiento, del tumor, pero la dosis más alta directamente mata la célula, es decir, aumenta la cinética celular y la mata. Eso es motivo de estudio no para discutir aquí, pero para que vean más o menos lo que se postula.

Otra cosa que podría pasar es estar el anti-estrógeno inhibiendo la transformación del complejo o inhibir la translocación. Eso no es cierto porque el complejo hormona anti-estrógeno receptor es translocado exactamente igual que en el caso del núcleo. Bueno otra vez siguiendo con los mismos esquemitas, para mostrar lo mismo que mostré al principio pero esto es mucho más simple. Es decir, estrógeno, interacción, translocación al núcleo, interacción y producción de actividad biológica específica. Date Howith que trabajaba en el grupo que yo trabajaba se le ocurrió postular con McGuire que se podría predecir aún mucho mejor la respuesta al tratamiento endocrino midiendo lo que esta interacción produce, es decir, determinando la actividad biológica. Por supuesto los estrógenos al actuar con un órgano "target"

producen una actividad específica ¿Qué es lo que se puede medir? ¿síntesis de proteína? ¿Cuáles proteínas? ¿es que el estrógeno regula los niveles de otro receptor? ¿Cuál es el receptor para la progesterona? Entonces al grupo de McGuire se le ocurrió decir: "vamos a predecir mucho mejor la respuesta si medimos receptor de estrógeno y si medimos lo que el receptor de estrógeno produce". En este caso el receptor es de la progesterona, pero podría ser otra cosa; podría ser una enzima, por ejemplo peroxidasa; podrían ser otro tipo de proteína como son el PA, PI, y el IP de los americanos, que es el "induced protein" que es una proteína específica de esta interacción. En este caso se trató de buscar en cáncer de la mama el receptor para la progesterona. Se empezó a buscar el receptor para la progesterona y evidentemente por análisis de gradientes de sucrosa, se encontró el receptor para progesterona. Abajo lo que no marca nada es lo que está competido. Arriba, todo eso quiere decir lo que la proteína está uniendo a la hormona. En el otro caso lo mismo, pero está en otra forma; no es necesario que lo analicemos en detalle. ¿Qué pasó cuando se analizó todo esto? Del mismo modo que se analizó como vimos en la diapositiva anterior, el análisis fue a base de la correlación de respuestas al tratamiento endócrino midiendo no solamente receptor estrogénico sino receptor estrogénico y de progesterona. Una cosa muy interesante, que era lo que se esperaba, cuando el receptor estrogénico y para la progesterona son positivos dentro de la célula es posible, en el caso de metástasis, en el caso de cáncer

avanzado, predecir la respuesta en un 92% de los casos. Eso todavía está en fase experimental, aunque, ya poquito a poco van siendo introducidos en la clínica. Desde ya le digo que en un cáncer de la mama en cualquier lugar del mundo occidental, con una tecnología adecuada en todos los lados, se mide el receptor para estrógeno. Es como medir glucosa, y como decía el doctor García Castro, refiriéndose a la hemoglobina, los resultados son mucho más exactos a lo mejor, que los resultados que se obtienen cuando uno mide glucosa. Se ha escandalizado tanto esto y sin embargo se pueden obtener resultados muy comparables y muy beneficiosos para el tratamiento posterior de la enfermedad.

Ha surgido otra cosa que es de interés especulativo en este momento. David Saba, también en el laboratorio de McGuire en el momento de yo llegar a la Universidad de Texas, preparó cultivos de una célula obtenida de una metástasis pleural, de una paciente con cáncer de mama. Las células están vivas y las están usando en muchos laboratorios, la paciente está muerta, pero la célula sigue viva. Es decir que el cáncer perduró y la paciente se murió, su cáncer está en los laboratorios. Esta celulita se conoce como "MCF7" que son las siglas de la "Michigan Cancer Foundation", siete por la línea celular. La célula demostraba que había más receptor dentro del núcleo que en el citoplasma. Nosotros habíamos dicho que el receptor estaba en el citoplasma, en los órganos "target". Esto evidentemente iba contra el dogma, ¿Por qué había más receptor libre en el núcleo que en el citoplasma?

el receptor lo podemos encontrar en el núcleo una vez que esté unido a la hormona, pero libre no, es decir, sin unirse no. ¿Qué era eso? Eso podría ser muchas cosas, entonces, la hipótesis que hicimos en ese momento fue: "Aquí lo que está pasando es que el receptor, por él mismo, está estimulando continuamente el genoma de la célula provocando duplicación celular."

Tras lo que hicimos anteriormente era dado pensar que podríamos encontrar tumores que tengan receptor para la progesterona libres en el citoplasma y luego ese receptor unido al estradiol marcado en el núcleo. Ese sería el primer caso. En el otro caso, el de la posmenopáusica, que todo el receptor esté en el citoplasma porque al no haber hormona no se transloca y entonces vamos a encontrarlo siempre en el citoplasma. En el primer caso podríamos encontrar el receptor citoplasmático para el estradiol que no transloque, ya que se había demostrado en unas ratitas que tenían hormona receptores independientes y que el complejo no translocaba al núcleo. O en el segundo caso, podemos encontrar el receptor unido en el núcleo o lo podríamos encontrar tanto en el citoplasma como en el núcleo, libre sin la hormona. Entonces, nos pusimos a estudiar esto. Yo me ocupé primeramente de las técnicas "exchange" (intercambio) que son necesarias hacer para poder determinar el tipo de receptores intranucleares. Esto es, de los ensayos que en ese momento existían. Pero ¿qué nos pasaba? Cuando mediamos el receptor intranuclear nos encontrábamos que si hacíamos una relación entre el tiempo de incubación y lo que

obteníamos de unión, utilizando diferentes temperaturas era que después de las cuatro horas perdíamos todo el receptor. Para medir el receptor, primero es necesario acomplejar la hormona al receptor en el citoplasma. En este caso la cosa es un poco más compleja, porque incluso lo que está unido previo al experimento hay que desunirlo y luego unir lo que uno añade. Para eso es necesario usar diferentes temperaturas.

A la temperatura a la que podríamos conseguir esa desunión en el tumor perdíamos absolutamente todo el receptor. Entonces, dijimos: "Ninguna de las técnicas que estaban funcionando sirve", porque las habíamos estudiado todas y a mí se me ocurrió usar otro absorbente, hidroxapatita, para estudiar el receptor nuclear y empezamos a ver los primeros resultados positivos como ustedes podrán ver en esta diapositiva. Como en el experimento número uno, nosotros medimos el receptor nuclear, en el citoplasma antes de una inyección en un tumor de mama hormona-dependiente, en una rata. Tomamos el tumor, le sacamos un pedacito, medimos receptor en el citoplasma y en el núcleo y encontramos que todo el receptor estaba en el citoplasma. Después que sacamos la mitad del tumor, le inyectamos a la ratita, estrógeno para provocar la translocación. Encontramos que parte del receptor se nos quedó en el citoplasma y parte, más de la mitad, se nos translocó para darnos un total aproximado y prácticamente igual. Así, que ya estábamos con el ensayo del receptor nuclear casi listo en tumores experimentales; le digo esto de tumores

experimentales porque hay ahí otro error tremendo y un problema tremendo con las malas interpretaciones o las extrapolaciones del conocimiento que se hace entre lo que se conoce, entre lo que se encuentra en un cultivo, lo que se encuentra en un tumor experimental en ratas o en conejos o en lo que fuera y lo que se encuentra en humano. Es decir ninguna de las tres cosas se parecen en nada, que no tenemos ni los números de cromosomas, ni tenemos nada por empezar, ni nos parecemos a las ratas. Entonces por eso es que hay que medir las cosas en tumores experimentales y después hay que ver que pasa en humanos, porque las cosas pueden ser totalmente diferentes. Bueno esto es tumor experimental y aclaro, pero cuando vamos a buscar los receptores nucleares en humanos y hacemos la gráfica o "plot", lo encontramos. Encontramos ese receptor nuclear con la constante de disociación que está en el orden indicado en la diapositiva. O muy lindo, hacemos el análisis, para hacerlo más fácil al estudio, usando una sola dosis y usando un "escarchet-plot". Hacemos una correlación y vemos que la correlación es bastante buena. Es decir, que no tendríamos necesidad de usar siete dosis o seis dosis para hacer un "escarchet-plot", sino una dosis y ésta nos permitiría determinar el receptor nuclear. Seguimos viendo que es lo que pasa en tumores humanos con ese receptor nuclear. Preparemos el núcleo con los métodos que ya le dije anteriormente, por los fraccionamientos celulares, preparamos el núcleo y qué hacemos: incubamos el núcleo o el extracto nuclear con la hormona a  $4^{\circ}$ . Si acomplejamos o cargamos a  $4^{\circ}$  vamos a obtener el



mismo tumor que el medido y acomplejado previamente. A 4° no va a presentar "binding", incluso hasta 18 horas después de haberse producido esa carga del receptor. En cambio el que no cargamos con receptor, el que no cargamos con hormona a 4° es medible, lo que nos está hablando de que el receptor que estábamos descubriendo era libre en el núcleo. Incluso que podríamos hacer el "exchange", el intercambio hormonal que habíamos hablado anteriormente. Este intercambio hormonal va a ser bien demostrable ya que ese que se trató a 4°, se trató a 30° también y ustedes vean como se puede medir el número de receptores. Claro, el intercambio se produjo ¿por qué? Porque los que saben física que acaso son todos seguramente, saben química y saben que la molécula se mueve mucho más rápido a temperaturas altas se disocia y se produce incluso una asociación más rápida y eso es lo que se consigue a 30°. Es decir que estábamos en presencia del receptor nuclear libre en tumores humanos. Lo volvíamos a estudiar y evidentemente lo encontrábamos a 4°. Encontrábamos valores un poco más alto a 40° en otros tumores, lo que estaba demostrando que estábamos midiendo tanto libre como unido. Esta es la experiencia del receptor nuclear libre en tumores de mama, la primera experiencia que se presentó en la literatura como ustedes podrán ver, evidentemente hay un gran número de tumores que tienen el receptor nuclear libre y ahí viene el problema. Es decir está contra el dogma, el dogma es una postulación hecha por una persona muy capaz que es el doctor Jensen y esto es solamente observable en los tumores en los cánceres de mama, también se observó en cáncer del endometrio. Si va contra

el dogma hay que pensar primeramente, que el dogma está equivocado, pero antes de pensar que el dogma está equivocado, hay que pensar el que uno esté equivocado. Insisto, en todo este tipo de preparaciones uno puede tener mil y un artefacto y uno de los artefactos que podría ocurrir aquí es que nuestro núcleo estuviese muy contaminado con membranas intracitoplasmáticas y eso es lo que nos estaría dando este tipo de receptor nuclear. Si bien que nosotros hemos hecho mil y un experimento para demostrar que eso no era cierto y hemos tratado de purificar lo mayormente posible en ese núcleo, no hemos podido conseguir evidente y categóricamente, poder decir que el receptor nuclear no es un artefacto, menos cuando aparece en cultivo de tejidos. Cultivos de tejidos que practicamente no están contaminados, ya que son de una célula clonal o clonizada previamente. Así que es una sola celulita, no hay otra célula a su alrededor y que uno puede tener bastante pureza cuando mide este tipo de cosa. Por otra parte, esos estudios fueron "a posteriori" confirmados por investigadores. No obstante eso, dos cosas: no sabemos realmente la magnitud que tiene el conocimiento del receptor nuclear libre dentro de tumores. Lo que sí sabemos es que hay algo que hace los tumores diferentes al tejido normal. A base de estos estudios lo que se postula en la actualidad es que el receptor nuclear hay que medirlo en el total celular. Es decir, hay que tomar como valor de receptor el total que hay entre lo que se une en el citoplasma y lo que se une en el núcleo y seguimos trabajando para ver si ese receptor nuclear no es un artefacto. Entonces volvemos al mismo esquemita y estamos otra vez en todas las posibilidades que tenemos con un tumor de mama. Fig. 1

¿Para qué sirve todo ésto?, bueno eso es lo que más interesa, sirve para algo. Esto es muy común, un día yo estaba en una reunión científica en Argentina y una persona o no sé qué pasaba con el hígado de un mosquito que sé yo. Y entonces, le pregunté para qué sirve, y, eso sirve para los mosquitos, me dijo. Yo no sé, podría tener gran significación. Y ustedes podrán decir: y eso, para qué sirve, y para que hicieron todo eso? El dinero que uno gasta para hacer tantas cosas. Y, se hizo para algo. Evidentemente: 1) Ahora ya podemos predecir la respuesta con bastante exactitud en el tratamiento endócrino; 2) que desde que podemos predecir la respuesta al tratamiento endócrino (es decir, se sabe que podemos usar anti-estrógeno) podemos evitar las castraciones; 3) sabemos que los tumores que tienen receptores responden mucho mejor a cualquier tipo de tratamiento, tanto hormonal como quimioterapéutico que los que no los tienen, es decir que el tumor que tiene el receptor aparentemente es más benigno; 4) Además, ya podemos, también, separar dos poblaciones diferentes de pacientes y decir esta población va a andar bien y esta va a andar mal. Entonces vamos a bombardear a la que va a andar mal o vamos a seguir buscando la posibilidad de que esa persona que anda mal podamos tratarla. Ya es obvio y visible que hay hasta modelos que tienen el cáncer de la mama extirpado y viven perfectamente. Hay tumores de mama que a veces por la evolución natural de la enfermedad o en algunos casos, por todo este tipo de cosa, uno puede mejorar muchísimo.

Quiero dejar un mensaje, el cáncer no es tabú. Cáncer es una enfermedad crónica y tratable que no hay que tenerle miedo. No hay que tenerle miedo, porque ya hay todas esas cosas acá en Puerto Rico. Yo estoy en Río Piedras tratando de hacer lo que en Ponce hacía, pero en Río Piedras no lo puedo hacer. ¿Por qué? Por lo mismo que decía el Dr. García Castro, los problemas económicos. Decir nosotros somos un territorio, es decir que yo conozco el tercer mundo. Por ser argentino, le puedo decir que Puerto Rico es un dichoso poseedor de una tecnología tremenda, mucho mejor que la de cualquier otro lugar del tercer mundo. Pero desgraciadamente, no sé por qué, yo no sé si es por la Semana de la Secretaria, la Semana del Zapatero, la Semana del Cartero, desgraciadamente, por todas estas cosas no podemos hacer o no podemos trabajar. Es decir que necesitamos organizarnos, fíjense que yo hace cuatro o cinco meses que estoy aquí y jamás había visto al Dr. García Castro. Estoy en el mismo centro y había escuchado de él pero nunca nos reunimos. A mí me interesa por ejemplo la alfafetoproteína; él a lo mejor tiene un montón de cosas que me podrían ser útil a mí y yo a lo mejor tengo cosas que le puedan ser útil a él. No nos reunimos, ni nos miramos, ni nos saludamos, subimos al mismo ascensor, nos rascamos la cabeza, no le decimos éste sí, éste no y estamos en ese tipo de cosas. Si seguimos con este tipo de actitud vamos a desaprovechar toda esta tecnología que tenemos aquí. Que le insisto, que los que no conocen el tercer mundo y

que se admiran cuando unos cubanos piden por qué no pueden comer jamón; (yo hasta los 15 años no comí jamón en Argentina que es mucho más rico que Cuba, y no pobre) nos admiramos porque los cubanos no comen jamón, sepan que en otros países no solamente en la etimología no hay jamón, no hay garbanzos, no hay ni porotos, ni nada de eso. Y también tiene que ver con la ciencia y el cáncer de la mama y con todo ese tipo de cosas. Entonces tenemos que en Puerto Rico planteamos de una vez por todas: "Vamos ha hacer ciencia o no", y si vamos a hacer una ciencia para qué, para quién. Eso es lo importante, y si vamos a hacer una ciencia folklórica o autóctona, vamos a hacer una ciencia como nos correspondería. Es decir, somos territorio americano, vamos a hacer una ciencia para Estados Unidos porque somos territorio americano. Nadie se ha definido y yo lo que quisiera es que alguna vez nos podamos reunir. Yo sé que soy el menos indicado porque soy extranjero, pero se pueden reunir los puertorriqueños y plantearse definitivamente: "Ciencia ¿para qué?, si vale la pena hacer todo esto aquí, yo mismo me lo planteo todos los días,...vale la pena hacerlo".

MUCHAS GRACIAS