

NUEVOS DESCUBRIMIENTOS EN CANCER EXPERIMENTAL

CHRISTIANE DOSNE PASQUALINI

Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

Resumen Este 7º Simposio Internacional sobre *Nuevas perspectivas en oncología* organizado por la Academia Nacional de Medicina, fue auspiciado por la UICC (Unión Internacional contra el Cáncer) y fuertemente apoyado por la Fundación Fritz Bender. En 1996 y 97, los dos primeros simposios también trataron temas de cáncer, relacionados con inmunología tumoral y con el cáncer de mama y su relación con MMTV (virus del tumor mamario murino). Es mi propósito hacer resaltar descubrimientos recientes que se hicieron en ambos temas, que son también los de mi laboratorio. Si bien con inhibidores de la angiogénesis se había conseguido frenar la neovascularización sin atacar, sin embargo, las células tumorales, recientemente, al añadir una leve pero continua quimioterapia, esta llamada "terapia metronómica" indujo una reabsorción de tumores ya establecidos¹⁰⁻¹³. Por el otro lado, se siguió relacionando el cáncer de mama en la mujer con el retrovirus del ratón MMTV, encontrándose secuencias virales y hasta la presencia del virus en dichos tumores^{19, 20}. Además, se ha correlacionado la alta incidencia de cáncer de mama en el Occidente con la presencia del ratón *Mus domesticus* ausente en Oriente donde la tasa es mucho más baja²¹. Es de esperar que nuevos descubrimientos – incluso algunas propuestas de esta reunión – consigan aportar más soluciones al difícil problema del cáncer.

Abstract *New breakthroughs in cancer research.* This 7th International Symposium organized by the National Academy of Medicine on *New directions in cancer management*, was sponsored by IICC (International Union against Cancer) and received important financial assistance from the Fritz Bender Foundation. In 1996 and 97, the first two Symposia also dealt with cancer, specifically with tumor immunology and with the relation of human breast cancer with MMTV (murine mammary tumor virus). The aim of these introductory remarks is to emphasize recent breakthroughs related to these two subjects, which are also those of my laboratory. Although with inhibitors of angiogenesis it had been possible to block neovascularization without, however, attacking the tumor, recently the addition of low but continuous chemotherapy, so-called "metronomic therapy", has led to the reabsorption of established tumors¹⁰⁻¹³. On the other hand, MMTV homologous viral sequences are being detected in human mammary tumors along with occasional viral particles^{19, 20}. Moreover, a correlation has been encountered between the presence of *Mus domesticus* and a high incidence of human breast cancer in Occident and its absence in Orient where there is a low incidence of this cancer²¹. It is to be hoped that new breakthroughs – or even conclusions from this meeting – will keep adding data towards finding solutions to the difficult problem of cancer.

Keywords: tumor immunology, MMTV, breast cancer

Es con verdadero placer que les doy la bienvenida a todos ustedes. Los participantes son más numerosos de lo calculado ya que teníamos 550 inscriptos con anterioridad al evento.

Este Simposio Internacional sobre "Nuevas perspectivas en oncología" surgió de una conversación con el Dr. Enrico Mihich el año pasado en ocasión de una de sus visitas a nuestro país. Con el Dr. Mihich me une una amistad muy particular desde que en 1962 me invitó a dar una conferencia en su laboratorio en Buffalo sobre

nuestros primeros resultados en la inducción de leucemia en ratones a partir del Sarcoma 180; era mi primera visita científica al exterior y de ella surgió una Beca para uno de mis colaboradores, Jorge Ferrer, quien luego se radicó en EE.UU. y se destacó en el estudio de la leucemia bovina.

El interés de Enrico Mihich y de Kurt Zaenker, con el auspicio de la UICC (Unión Internacional contra el Cáncer) y la importante colaboración de la Fundación Fritz Bender, de organizar una reunión sobre cáncer coincidió con el nuestro. En efecto, la Academia Nacional de Medicina tiene especial interés en la puesta al día de temas científicos y el actual es el 7º Simposio Internacional que se organiza desde 1996, todos con una concurrencia, sin cargo, de más de 500 inscriptos.

Me ocupé personalmente de que todos estos eventos se publiquen en *Medicina (Buenos Aires)*¹⁻⁶ - y esto vale para el actual. En esta ocasión, participan 12 investigadores extranjeros y 12 de los nuestros y es de esperar que tengamos amplias y constructivas discusiones de los varios temas que fueron elegidos por ser de gran actualidad.

Este Simposio es de alguna manera la continuación de los dos primeros^{1, 2} correspondientes a 1996 y 1997, dedicados específicamente a temas de cáncer. En esa época, dos oncólogos de renombre escribían que la "guerra contra el cáncer" – iniciada en 1971 con el *National Cancer Act* firmado por Nixon – no había terminado: aseguraban que el efecto de los nuevos tratamientos en los tumores sólidos era desalentador y que no se conseguía afectar las tasas de mortalidad: preconizaban más énfasis en la prevención del cáncer en reemplazo de "falsas esperanzas en una curación universal"⁷. Hay que admitir que tres años más tarde no estamos en mejores condiciones, a pesar de lo cual se siguen acumulando nuevos descubrimientos (*breakthroughs*) siempre con la sostenida esperanza de vencer a este flagelo – una fuerte expresión de deseo (*wishful thinking*).

Daré sólo dos ejemplos de nuevos descubrimientos, elegidos por estar relacionados con los temas de investigación de mi laboratorio y que además fueron objeto de los dos primeros simposios: involucran la relación tumor-huésped por un lado y el retrovirus asociado al cáncer de mama, por el otro..

En el ratón, si bien el crecimiento de un tumor en un huésped alógeno se acompaña de una fuerte reacción inmunológica, el tumor de origen espontáneo suele ser no-inmunogénico; su trasplante singéneo no produce anticuerpos pero sí induce *resistencia concomitante*. Se trata de un fenómeno según el cual, en presencia de un tumor primario, un segundo inóculo tumoral a distancia no crece, sino que se mantiene en forma de "tumor dormido". Llamativa es la ausencia total de flujo de células del huésped. En nuestro laboratorio pudimos demostrar que el estado latente de este inóculo tumoral secundario es debido a la falta de un lecho inflamatorio ya que cualquier estímulo local capaz de producir inflamación desencadena su crecimiento; es decir que falta la neovascularización necesaria para la progresión tumoral. Simultáneamente aparece en el suero un factor antitumoral de bajo peso molecular (>1000) capaz de inhibir la diseminación metastásica^{8, 9}, el cual está en vías de caracterización.

En relación con este tema se destacan los nuevos descubrimientos de la escuela de Folkman en Boston¹⁰ y de Kerbel en Toronto¹¹. Con los inhibidores de la angiogénesis, del tipo de la angiostatina, se había conseguido frenar la neovascularización sin atacar, sin embargo, las propias células tumorales que quedaban en un estado de "tumor dormido"; recientemente al añadir

un tratamiento quimioterápico leve pero continuo, por eso denominado "terapia metronómica"¹², se ha conseguido una reabsorción de tumores ya establecidos. Para los oncólogos, esta posibilidad de una quimioterapia sin los agravantes de la agresividad por altas dosis y con aplicación continua es muy tentadora y ya se habla de ensayos clínicos prometedores¹³.

El segundo tema es el del cáncer de mama inducido en ratones por el retrovirus MMTV (*Mouse Mammary Tumor Virus*). En nuestro laboratorio se ha conseguido un novel superantígeno codificado por MMTV surgido por recombinación entre un MMTV exógeno (por leche) y el provirus Mtv-7 endógeno a nivel del gen *sag*, el cual induce un aumento en la incidencia de cáncer de mama en múltiparas de hasta un 80%¹⁴⁻¹⁶.

En cuanto a la relación del MMTV con el cáncer de mama humano, hace muchos años, habíamos conseguido demostrar que el 86% de 240 sueros de pacientes con cáncer de mama daban reacción positiva por inmunofluorescencia indirecta, sobre células de un tumor mamario inducido en el ratón por MMTV; ninguno de los 297 sueros controles daban positividad^{17, 18}. El tema fue retomado por Beatriz Pogo en New York: ella encontró secuencias retrovirales en el 38% de los tumores de mama, con 98% de homología con el gen *env* del MMTV y baja homología con retrovirus humanos endógenos¹⁹. Incluso encontró partículas virales en el cultivo de uno de los tumores (comunicación personal). Recientemente, Etkind et al²⁰ han confirmado estos resultados.

No hay una explicación fácil y más aun a la luz de una reciente publicación de Stewart et al²¹. Estos autores hicieron una comparación geográfica de la incidencia de cáncer de mama y la correlacionaron con la presencia del ratón *Mus domesticus* que tiene una alta carga viral para MMTV: encontraron que en los dominios de este roedor la incidencia promedio de cáncer de mama por 100 000 mujeres era de 66 (incluyen EE.UU., Argentina, Inglaterra, Francia, Suiza, etc..) mientras que en países libres de este roedor, la incidencia era de 22 (Japón, China, Taiwan, India, Tailandia, Corea, etc..). Estos datos, con una diferencia estadística muy significativa, llevan a reflexionar, más aun al conocerse que el traslado de mujeres asiáticas a países occidentales se acompaña de un aumento en la tasa de cáncer de mama. No hay explicación por el momento, pero sí muchas hipótesis que esperan una difícil confirmación.

Para finalizar, quisiera acotar que hace 43 años, cuando me inicié en la investigación oncoinmunológica en la Sección Leucemia Experimental del Instituto de Investigaciones Hematológicas de esta Academia, por iniciativa de Alfredo Pavlovsky, se buscaba la causa del cáncer en los virus²². Hoy se habla de oncogenes y de genes supresores de tumores para llegar finalmente a una teoría génica del cáncer. Esta implica cambios dinámicos en el genoma que configuran una cascada de eventos

sucesivos necesarios para transformar a largo plazo una célula normal en neoplásica. El resultado es a menudo un "tumor dormido" que se activará sólo al formarse un lecho inflamatorio. Una vez que progresa el tumor, ¿como hacerlo regresar? Esto ha sido prácticamente imposible cuando se trata de tumores sólidos.

Durante mucho tiempo se consideró al sistema inmunológico como sistema de defensa contra las agresiones exógenas e inclusive contra el cáncer; hoy se acepta que se trata de un complejo sistema homeostático con reacciones tanto en pro como en contra, y eso se puede aplicar al crecimiento tumoral. Por un lado, se necesita un lecho inflamatorio con estímulo inmunológico para "despertar" un tumor "dormido" cumpliendo con la teoría de hiperestimulación del cáncer propuesta por Richmond Prehn²³ y apoyada por Stewart²⁴. Por el otro lado, todo intento de rechazo inmunológico con terapias inmunomoduladoras ha fracasado debido al juego en vaiven de las células y quimioquinas involucradas²⁵, tipo Th1 versus Th2.

A pesar de todo, el oncólogo tanto clínico como experimental sigue trabajando con un entusiasmo hecho de expresión de deseo, *wishful thinking* (quiere encontrar la solución a toda costa) siempre abriendo nuevos caminos como los que proponen Hanahan y Weinberg²⁶ en una reciente revisión y además de los que propondrán seguramente los participantes de este evento. ¡ Ojalá se cumplan sus propuestas !

Bibliografía

1. Reevaluación de la inmunología tumoral. Simposio Internacional, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, agosto 1996. *Medicina (Buenos Aires)* 1996; 56 (Supl I): 1-96.
2. Nuevas perspectivas para el cáncer de mama humano a partir de modelos experimentales. Simposio Internacional, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, junio 1997. *Medicina (Buenos Aires)* 1997;57(Supl II): 1-96.
3. SIDA y el desafío de las enfermedades emergentes. Simposio Internacional, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, setiembre 1998. *Medicina (Buenos Aires)* 1998;58(Supl I):1-84.
4. Shock 1998. Oxígeno, óxido nítrico y perspectivas terapéuticas. Simposio Internacional, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, abril 1998. *Medicina (Buenos Aires)* 1998;58:357-410.
5. Problemática de la enfermedad de Chagas. Simposio Internacional, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, abril 1999. *Medicina (Buenos Aires)* 1999;59(Supl II): 1-128.
6. Los 60 años de la revista *Medicina (Buenos Aires)* . La investigación Clínica en el próximo milenio. Simposio Internacional, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, octubre 1999. *Medicina (Buenos Aires)* 2000 ;60:1-160.
7. Bailar III JC, Gornick HL. Cancer undefeated. *N Engl J Med* 1997;336:1569-74.
8. Franco M, Bustuoabad OD, di Gianni PD, Goldman A, Pasqualini CD, Ruggiero RA. A serum-mediated mechanism for concomitant resistance shared by immunogenic and non-immunogenic murine tumors. *Br J Cancer* 1996;74:178-86
9. Franco M, Bustuoabad OD, di Gianni PD, Meiss RP, Vanzulli S, Buggiano V, Pasqualini CD, Ruggiero RA. Two different types of concomitant resistance induced by murine tumors: Morphological aspects and intrinsic mechanisms. *Oncol Rep* 2000;7: 1053-63
10. Browder T, Butterfield CE, Kraling BM, Shi B, Marshall B, O'Reilly, Folkman J. Antiangiogenic scheduling of chemotherapy improves efficacy against experimental drug-resistant cancer. *Cancer Res* 2000;60:1878-86
11. Klement G, Baruchel S, Rak J, Man S, Clark K, Hicklin DJ, Bohlen P, Kerbel RS. Continuous low-dose therapy with vinblastine and VEGF receptor-2 antibody induces sustained tumor regression without overt toxicity. *J Clin Invest* 2000;105:R15-24
12. Hanahan D, Bergers G, Bergsland E. Less is more, regularly: metronomic dosing of cytotoxic drugs can target tumor angiogenesis in mice. *J Clin Invest* 2000;105:1045-7
13. Barinaga M. Cancer drugs found to work in a new way. *Science* 2000;288:245
14. Piazzon I, Nepomnaschy I, Buggiano V, Bekinstein P, Goldman A, Berguer P, Deroche A, Lombardo G. Superantígenos y retrovirus del tumor mamario murino. *Medicina (Buenos Aires)* 1997;57:21-33
15. Golovkina T, Piazzon I, Nepomnaschy I, Buggiano V, Olano-Vela M, Ross RJ. Generation of a milk-borne mouse mammary tumor virus by recombination between endogenous and exogenous viruses. *Virology* 1997;71:3895-903
16. Quin W, Golovkina TV, Peng T, Nepomnaschy I, Buggiano V, Piazzon I, Ross SR. Mammary gland expression of mouse mammary tumor virus is regulated by a novel element in the long terminal repeat. *J Virol* 1999;73:368-76
17. Pasqualini CD, Di Girolamo MTV, Segal A, Laguens RP. Antibodies cross-reacting with Gross virus detected in human leukemia and Hodgkin disease. *Medicina (Buenos Aires)* 1980;40:289-94
18. Segal-Eiras A, Croce MV, Pasqualini CD. Antibodies cross-reacting with mouse retrovirus B and C in the sera of both leukemia-lymphoma and mammary cancer patients. *Arch Geschulstforschung* 1983;53:322-7
19. Wang Y, Holland JF, Bleiweiss I, Melana S, Liu X, Pelisson I, Cantarella A, Stelrecht K, Mani S, Pogo BG. Detección de mammary tumor virus *env* gene-like sequences in human breast cancer. *Cancer Res* 1995;55:5173-9
20. Etkind P, Du J, Khan A, Pilliteri J, Wiernik PH. Mouse mammary tumor virus-like ENV gene sequences in human breast tumors and in a lymphoma of a breast cancer patient. *Clin Cancer Res* 2000;6:1273-8
21. Stewart THM, Sage RD, Stewart AFR, Cameron DW. Breast cancer incidence highest in the range of one species of house mouse, *Mus domesticus*. *Br J Cancer* 2000;82:446-51
22. Pasqualini CD. Cuatro décadas de oncoinmunología experimental. *Bol Acad Nac Med* 1998;76:429-44
23. Prehn RT, Prehn LM. Immunostimulation of cancer versus immunosurveillance. *Medicina (Buenos Aires)* 1996; 56 (Supl I): 65-73
24. Stewart THM. Immune mechanisms and tumor dormancy. *Medicina (Buenos Aires)* 1996;56(Supl I):74-82
25. Pasqualini CD. El dilema de la terapia del cáncer y la relación oncólogo-paciente. *Medicina (Buenos Aires)* 1998;58:113-6
26. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100:57-70