

Patricia Talamás Rohana, Diana Laura Pichardo Hernández y Claudia Elizabeth Vera Tizatl

Investigación básica del cáncer de ovario

Para conocer los mecanismos involucrados en el desarrollo del cáncer de ovario es necesario recurrir a la investigación básica, mediante modelos *in vitro* (estudios de laboratorio) e *in vivo* (modelos animales), así como diferentes plataformas tecnológicas. Todo esto genera nuevos conocimientos que permiten comprender mejor cómo se desarrolla la enfermedad.

La investigación en ciencia básica para el estudio de la enfermedad

El método científico, originalmente aplicado al estudio de la naturaleza y del Universo, se utiliza desde hace mucho tiempo para estudiar las enfermedades. La ciencia básica es aquella rama de las ciencias que se lleva a cabo sin fines prácticos inmediatos, en la mayoría de los casos, pero con el objetivo de incrementar el conocimiento sobre algún tema en particular. De esta manera, un conjunto de estudios en ciencia básica puede responder al porqué de ciertos acontecimientos complejos, como aquéllos observados en las diferentes enfermedades. Cuando se llega a este punto, se puede decir que es ciencia aplicada, ya que dicho conjunto de estudios podrá tener una aplicación directa, en este caso, sobre el tratamiento o diagnóstico de las enfermedades. Por lo tanto, es importante reconocer que la ciencia básica es el componente más elemental de la investigación, ya que de ella emerge el conocimiento de los procesos más intrincados de nuestro entorno. Con relación a las enfermedades, resulta esencial generar nuevos conocimientos sobre su desarrollo y respuesta a los tratamientos para erradicarlas.

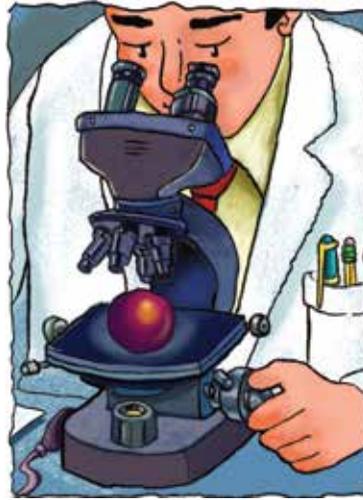
En el caso del cáncer de ovario epitelial, el inicio y el progreso de la enfermedad son muy complejos, por lo que diagnosticarlo es difícil; aún no existen estándares en México ni a nivel mundial que ayuden al diagnóstico temprano. Por lo tanto, es importante impulsar el estudio de esta entidad desde los aspectos básicos, para contar con un panorama más amplio sobre la biología de este tipo de cáncer.

Existen diferentes puntos importantes por estudiar; entre ellos, la búsqueda de nuevos biomarcadores, que consiste en la detección y caracterización de moléculas que participan activamente en el progreso de la enfermedad. Éste es el caso de algunos receptores de membrana que funcionan como proteínas de adhesión, o





algunas proteínas que reflejen las diversas funciones que realizan las células cancerosas para sobrevivir en el complejo microambiente tumoral en el que se ven envueltas. En este ámbito, la ciencia básica se vale de diversos métodos y técnicas de laboratorio que permiten evaluar el comportamiento de las células bajo distintas condiciones. De esta manera, podemos observar si las células pueden moverse y re-



producirse más rápido de lo que lo harían normalmente, saber si son capaces de invadir otros órganos y sitios anatómicos, o identificar qué proceso o molécula las hace resistentes a los agentes quimioterapéuticos que actualmente se utilizan en la clínica oncológica. Para atender esto, la ciencia básica utiliza métodos altamente reproducibles, lo cual asegura que los resultados obtenidos de la investigación son verídicos y no son resultados artificiales debidos a una mala ejecución técnica.

En México, los estudios en ciencia básica por lo general se realizan en las diferentes universidades y los centros de investigación. Asimismo, la colaboración entre los sectores –públicos y privados– de salud, educación e investigación es muy importante para poder seguir descubriendo los procesos clave del inicio y la progresión de las enfermedades.

En México, los estudios en ciencia básica por lo general se realizan en las diferentes universidades y los centros de investigación. Asimismo, la colaboración entre los sectores –públicos y privados– de salud, educación e investigación es muy importante para poder seguir descubriendo los procesos clave del inicio y la progresión de las enfermedades.

■ ■ ■ **Modelos de investigación**

■ La investigación básica del cáncer se apoya en el uso de las líneas o cultivos celulares y en los modelos animales.

Cultivos celulares

La primera línea celular de cáncer se aisló en 1970 de una mujer con cáncer cervicouterino. Esta línea celular se denominó HeLa, debido al nombre de la paciente: Henrietta Lacks. Para dar una idea del impacto que tiene una línea celular en la investigación, se puede mencionar que la búsqueda del nombre HeLa en bases de datos científicos revela más de 90 000 trabajos en los cuales se ha utilizado.

de **blancos terapéuticos**, biomarcadores o nuevos tratamientos.

Para el estudio del cáncer de ovario epitelial, actualmente se cuenta con varias líneas celulares. Entre ellas está la línea celular SKOV-3, la cual fue aislada de una paciente de 64 años y es, hasta la fecha, una de las más utilizadas en la investigación de esta patología. La búsqueda de SKOV-3 en bases de datos científicos revela alrededor de 1 000 trabajos publicados que emplearon esta línea. Aunque no es la única derivada de un cáncer de ovario, este número de publicaciones demuestra lo poco que se ha estudiado esta enfermedad en particular.

Para lograr un cultivo celular adecuado, se requiere tener un medio de cultivo que aporte todos los nutrientes necesarios para las células, como glucosa (que constituye su fuente de energía), factores de crecimiento (aportados en el suero proveniente de algún animal), sales, aminoácidos, vitaminas y otros. Este cultivo se lleva entonces a una incubadora que mantiene una temperatura constante de 37 °C (similar a la temperatura corporal) y una atmósfera con 95% de aire y 5% de dióxido de carbono. El medio de cultivo y las condiciones pueden variar con cada cultivo o línea celular, ya que cada una tiene requerimientos específicos.

Con el fin de que los cultivos celulares semejen lo mejor posible lo que ocurre en un tejido u órgano, actualmente se cuenta con cultivos en tres dimensiones, que se caracterizan por el uso de bases sólidas o semisólidas, constituidas por proteínas de matriz extracelular, como la colágena y la fibronectina, entre otras. Sobre estas bases crecerán las células, con

► **Blancos terapéuticos**

Moléculas o proteínas con una forma específica sobre la que un fármaco actúa. Por ejemplo, los antibióticos actúan contra proteínas concretas que son vitales para las bacterias y que además no existen en el ser humano.

la intención de recrear las condiciones del tumor en cuanto a forma y volumen. Sin embargo, aún no se ha logrado simular totalmente las condiciones presentes en los tumores.

Plataformas tecnológicas

Nos referimos a *plataformas tecnológicas* como un conjunto de *hardware* y *software* creado por las compañías innovadoras de tecnología, las cuales diseñan aplicaciones creativas, únicas y cada vez más accesibles a los usuarios. En fechas recientes se han desarrollado este tipo de plataformas para realizar **análisis proteómicos**, las cuales han ido mejorando sustancialmente su capacidad de resolución. En particular, la combinación de la electroforesis bidimensional (separación de proteínas por tamaño y por carga; véase la Figura 1), en combinación con la espectrometría de masas (técnica analítica para estudiar compuestos de naturaleza diversa: orgánica, inorgánica o biológica), ha permitido relacionar a las proteínas codificadas por el genoma de una célula con su función biológica. El análisis por espectrometría de masas permite obtener información estructural del compuesto analizado, o simplemente detectar su presencia, o bien cuantificar su concentración.

También se cuenta con otro tipo de ensayos masivos, como los ensayos de ELISA múltiples (del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas), los microarreglos de anticuerpos, etcétera. Los anteriores pueden proporcionar una resolución casi ilimitada de proteomas complejos.

Cuando se trata de muestras de tejido, por lo general éstas se encuentran embebidas en parafina para preservar su estructura. Dicha condición permite realizar ensayos de inmunohistofluorescencia (técnica de marcación que hace uso de anticuerpos unidos químicamente a una sustancia fluorescente para demostrar la presencia de una determinada molécula en un tejido) mediante herramientas que permitan la detección de la molécula de interés; por ejemplo, anticuerpos dirigidos hacia una región específica de una proteína. Este anticuerpo puede estar directamente unido a una molécula que mediante la adición de un sustrato emite una señal, o bien puede

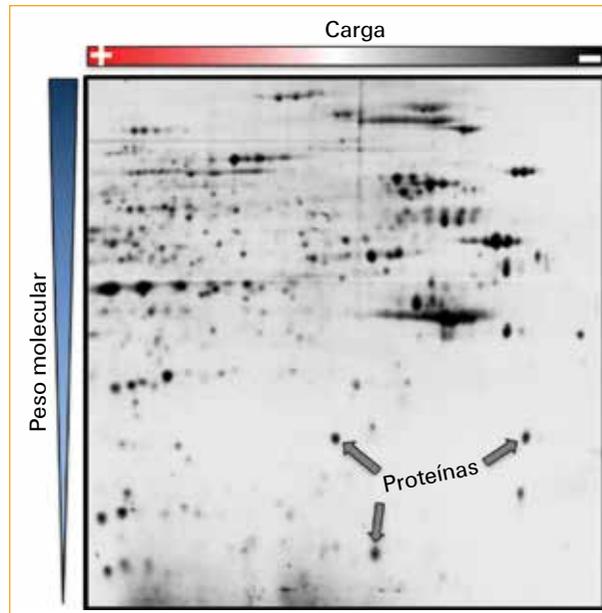


Figura 1. Mapa proteómico: separación de proteínas celulares por peso y carga para análisis de expresión diferencial (figura original elaborada por el equipo de trabajo del laboratorio de la doctora Patricia Talamás Rohana).

Análisis proteómicos

Estudio y caracterización de todo el conjunto de las proteínas que se expresan en un genoma (proteoma).

haber un segundo anticuerpo dirigido hacia el primero que contenga esta enzima (véase la Figura 2).

Modelos animales

A pesar de la relevancia de los resultados y los conocimientos generados por los modelos de estudio *in vitro* (pruebas de laboratorio), resulta necesario complementar dichas investigaciones con la aplicación de otras metodologías, como el uso de modelos animales.

Los modelos animales más empleados son las especies pequeñas de roedores, como el ratón, la rata, el cobayo y el hámster, entre otros. En particular, el ratón resulta un modelo muy útil debido a su bajo costo relativo, su fácil manipulación y su alta similitud genómica (99%) con el ser humano, lo que permite simular el desarrollo de las enfermedades. Por todo lo anterior, los ensayos en ratones de diferentes cepas han sido muy utilizados para el estudio del cáncer de ovario.

Actualmente existen dos tipos de modelos principales: el primero consiste en la implantación de las líneas celulares de cáncer de ovario en diferentes sitios u órganos del animal; el segundo, a través de

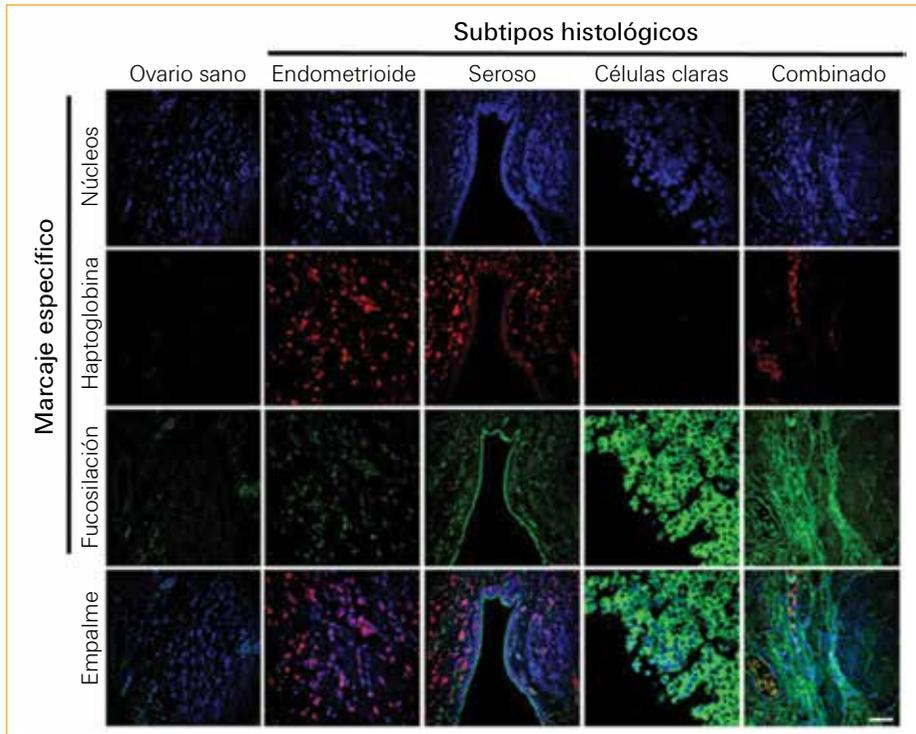


Figura 2. Detección por la técnica de inmunofluorescencia indirecta de diferentes proteínas (tomado de: Villegas Pineda y cols., 2015).

la ingeniería genética, es la creación de cepas genéticamente modificadas a través de la mutación, la supresión o la adición de genes relevantes para el desarrollo del cáncer.

En la presente revisión nos enfocaremos en el primer modelo, el cual ha sido más estudiado, no sólo para cáncer de ovario, sino para diversos tipos de cáncer. Éste consiste en implantar células de cáncer en ratones cuya respuesta inmune está limitada, lo que permite el establecimiento de las células tumorales. A estos animales se les conoce como ratones *nu/nu*, debido a su apariencia desnuda o sin pelo (del inglés *nude*, desnudo). Además, presentan una mutación genética que impide el desarrollo de una respuesta por parte del sistema inmunológico, lo que evita que se generen respuestas de rechazo al tejido. Esta característica ha permitido la implantación, con gran éxito, de diferentes líneas celulares de cáncer de ovario. Aunado a esto, los ratones *nu/nu* son singénicos, es decir, tienen poca variabilidad genética, por lo que la respuesta a la implantación de tumores y a los fármacos suele ser similar entre los individuos; esto permite que el estudio sea reproducible y que se puedan realizar análisis estadísticos.

El ensayo con este modelo consiste en introducir la línea celular de cáncer de ovario en diferentes partes del cuerpo, por ejemplo, dentro de la cavidad peritoneal, que es el espacio que contiene los órganos abdominales; por vía subcutánea, es decir, por debajo de la piel (subdérmica); o bien directamente en algún órgano o tejido.

En la localización subdérmica, las lesiones tumorales pueden ser analizadas con diversas técnicas de imagenología, como ultrasonido, resonancia magnética y tomografía –tal como si fueran análisis para un ser humano– (véase la Figura 3). La vía de implantación de las células cancerígenas por debajo de la piel hace que los tumores resulten visibles y palpables, por lo que resulta posible medirlos y dar seguimiento a su crecimiento.

Esto último es muy importante en la generación de nuevas terapias contra el cáncer de ovario, ya que se puede evaluar si la administración de compuestos es capaz de disminuir el tamaño de los tumores o, mejor aún, eliminarlos por completo. Una variante de esta estrategia experimental para la búsqueda de fármacos antitumorales consiste en administrar el fármaco de interés una vez que el tumor se ha desarro-



Figura 3. Ratón nu/nu con implante subcutáneo de células cancerígenas de ovario SKOV-3 (figura original elaborada con resultados obtenidos en el laboratorio de la doctora Patricia Talamás Rohana).

llado, para valorar el efecto del compuesto sobre el tamaño o el volumen del mismo. Otra alternativa es buscar nuevos fármacos para eliminar la recurrencia de cáncer por quimiorresistencia; es decir, se permite la diseminación o el crecimiento del tumor, el cual se trata con quimioterapia estándar y después se trata con el nuevo fármaco.

Por su parte, el desarrollo de los tumores en la cavidad peritoneal facilita el análisis de la expresión de las moléculas que son esenciales para su crecimiento; así como aquéllas que ayudan a que las células tumorales se desprendan del tumor original, migren e invadan otros tejidos. La comprensión de estos procesos permite determinar moléculas que regulan y controlan la agresividad del tumor, con lo cual se proponen nuevos blancos terapéuticos.

Los modelos animales también han resultado de gran utilidad en el diseño de nuevos esquemas de tratamiento. Por ejemplo, gracias a los hallazgos en los modelos animales se ha observado que hay mayor absorción del fármaco por vía intraperitoneal que por vía intravenosa. Debido a que en el ser humano el cáncer de ovario se desarrolla en dicha cavidad, actualmente se está sustituyendo el tratamiento vía intravenosa por la vía intraperitoneal, ya que parece ser más efectivo.

Así, las líneas celulares en general, y las de cáncer de ovario en particular, en combinación con los modelos animales, la aplicación y el uso de diferentes plataformas tecnológicas, ofrecen una mayor comprensión de esta patología y una oportunidad para mejorar los tratamientos.

Patricia Talamás Rohana

Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular,
Cinvestav IPN.
ptr@cinvestav.mx

Diana Laura Pichardo Hernández

Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular,
Cinvestav IPN.
laurita_nesc@hotmail.com

Claudia Elizabeth Vera Tizatl

Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular,
Cinvestav IPN.
gatito_clau@hotmail.com

Lecturas recomendadas

- Dowdy, S. C. *et al.* (2013), "Oncología ginecológica: cáncer de ovario, de trompas uterinas y peritoneal", en J. S. Berek, Berek y Novak, *Ginecología*, 15.^a ed., Barcelona: Wolters Kluwer Health, pp. 1350-1392.
- Emory University (s/f), "Resistencia a los medicamentos del cáncer", *Cancer Quest*. Disponible en: <<https://www.cancerquest.org/es/para-los-pacientes/resistencia-drogas>>. Consultado el 8 de agosto de 2017.
- Jesús Monge, W. E. de (2015), "El ratón como base de modelos de cáncer humano: una valiosa herramienta en la investigación oncológica", *Galenus*, 17:1-4.
- Lowy, D. R. (2015), "Progreso contra el cáncer: el papel de la ciencia básica", *Instituto Nacional del Cáncer*. Disponible en: <<https://www.cancer.gov/espanol/noticias/temas-y-relatos-blog/2015/ciencia-basica>>. Consultado el 8 de agosto de 2017.
- Villegas Pineda, J. C. *et al.* (2015), "Integrins and haptoglobin: Molecules overexpressed in ovarian cancer", *Pathology Research and Practice*, 211(12):973-981.