

Células tumorales circulantes en cáncer de mama

Circulating tumor cells in breast cancer

Eunice López-Muñoz¹ y Gabriel Enrique Mejía-Terrazas²

Resumen

El cáncer de mama es el cáncer más recurrente en la población femenina, su mortalidad se relaciona con la presencia de metástasis a distancia. La metástasis a distancia inicia como un pequeño grupo de células que se diseminan a nivel regional y a distancia del sitio de origen primario. Las células tumorales circulantes (CTC) están presentes en la sangre de las pacientes con cáncer, por lo que se consideran marcadores de enfermedad y precursoras de metástasis. Es trascendental la revisión de los aspectos moleculares del proceso metastásico, las técnicas disponibles para el enriquecimiento, identificación y caracterización molecular de CTC, así como algunos ejemplos de su utilidad y aplicación clínica en pacientes con cáncer de mama, incluyendo aspectos relacionados con el manejo perioperatorio durante la cirugía oncológica mamaria.

Palabras clave: Neoplasias de la Mama; Células Neoplásicas Circulantes; Metástasis de la Neoplasia; Biomarcadores

Introducción

El panorama del cáncer de mama se puede plantear a partir de tres hechos: es la primera causa de muerte por neoplasias en la mujer, la cirugía es el tratamiento que se aplica con mayor frecuencia y la recurrencia por metástasis continúa siendo causa de muerte.¹ La metástasis inicia a partir de un grupo pequeño de células que se diseminan en una región a distancia del sitio de origen primario del cáncer. Las células tumorales circulantes (CTC) se desprenden del tumor primario o del tumor

Abstract

Breast cancer is the most recurrent cancer in female population, its mortality is related to the presence of distant metastases. Distant metastasis begins as a small group of cells that spread regionally and remotely from the site of primary origin. Circulating tumor cells (CTC) are present in the blood of cancer patients and are therefore considered disease markers and precursors of metastasis. It is transcendental the review of the molecular aspects of the metastatic process, the available techniques for the enrichment, identification and molecular characterization of CTC, as well as some examples of its usefulness and clinical application in patients with breast cancer, including aspects related to perioperative management during breast cancer surgery.

Keywords: Breast Neoplasms; Neoplastic Cells, Circulating; Neoplasm Metastasis; Biomarkers

metastásico y entran en la sangre periférica de los pacientes con cáncer. Las CTC son escasas en comparación con las células hematológicas (alrededor de 1 CTC x 10⁷ leucocitos por mL de sangre) y pueden ser detectadas solo mediante técnicas en extremo sensibles y específicas.² La detección y el análisis de las CTC pueden proveer información sobre la sensibilidad o resistencia a los tratamientos, e identificar posibles blancos terapéuticos, abriendo la oportunidad de otorgar atención y monitoreo personalizado en pacientes con cáncer, ofreciendo las ventajas del estudio de sangre

¹Instituto Mexicano del Seguro Social, Hospital de Gineco Obstetricia No. 4 "Luis Castelazo Ayala", Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva; ²Hospital Ángeles México, Servicio de Anestesiología y de Clínica del Dolor. Ciudad de México, México

Correspondencia:

*Eunice López Muñoz

E-mail: astridkaryme2001@yahoo.com.mx

2448-5667 / © 2020 Instituto Mexicano del Seguro Social. Publicado por Permayer. Éste es un artículo *open access* bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Fecha de recepción: 03/05/2019

Fecha de aceptación: 07/04/2020 Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2020;58 Supl 1:S51-61

DOI: 10.24875/RMIMSS.M20000115

<http://revistamedica.imss.gob.mx/>

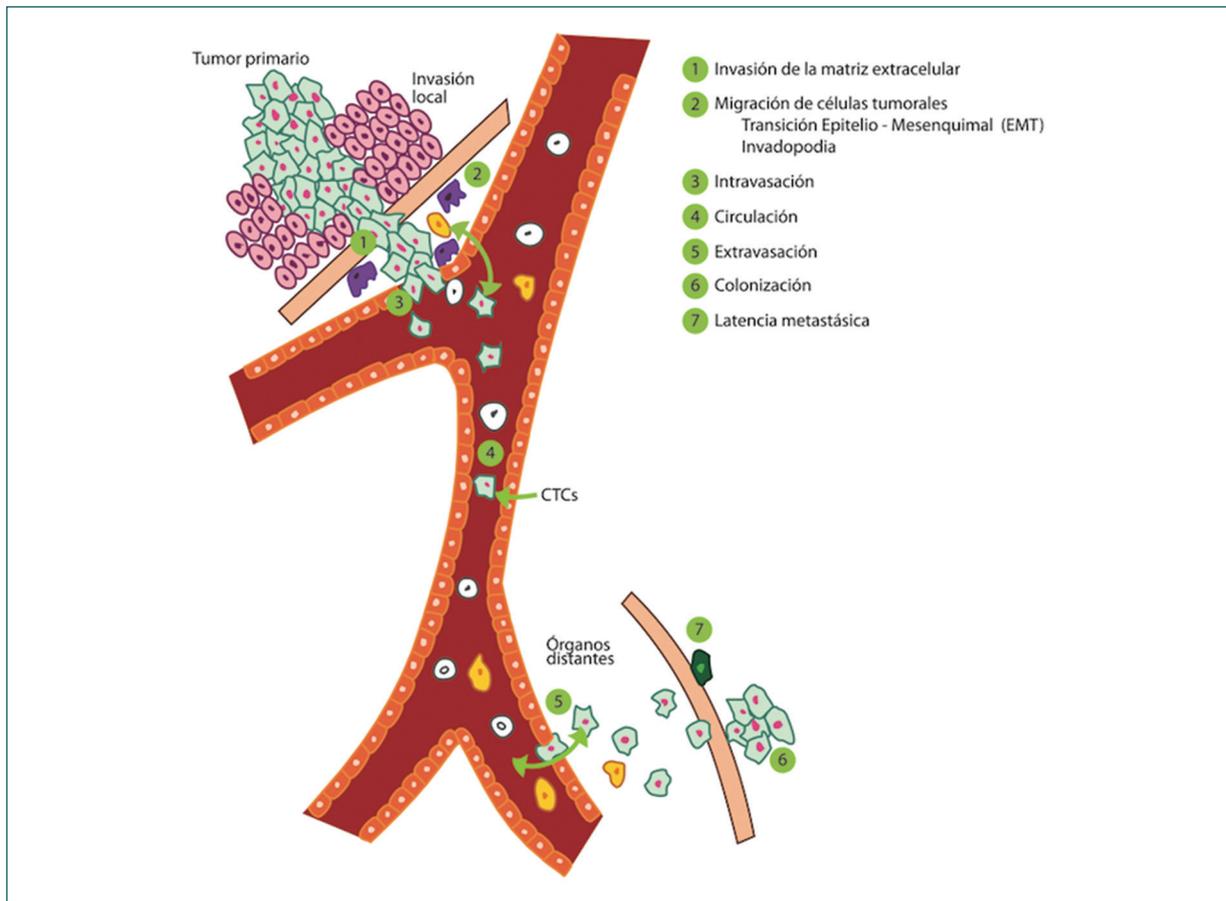


Figura 1. Fases del proceso metastásico.

periférica, las cuales incluyen la no invasibilidad y el fácil monitoreo. El objetivo de esta revisión es describir la participación de las CTC en el proceso metastásico, las principales técnicas disponibles para su detección (enriquecimiento y análisis) y las potenciales aplicaciones clínicas para su tratamiento, monitoreo terapéutico y pronóstico en las pacientes con cáncer de mama.

Importancia de las CTC en el proceso metastásico en pacientes con cáncer de mama

La mayoría de las células cancerosas en el tumor primario en mama tienen fenotipo metastásico, que implica la diseminación de células tumorales de manera temprana en el proceso de carcinogénesis.^{3,4} Para que la metástasis logre diseminarse, un grupo de células tumorales debe ser capaz de invadir el tejido del hospedero, sobrevivir y proliferar. Este proceso requiere la entrada de células tumorales mamarias en la circulación, su permanencia en el lecho vascular distal, su

extravasación en el intersticio y parénquima del órgano distante y proliferación como una colonia secundaria (Fig. 1).^{3,4,5,6,7,8} No se conocen con exactitud los factores que determinan la vía linfática o hematogena para la diseminación de las células tumorales y si son independientes una de otra. Hartkopf⁹ mostró que la diseminación de las células tumorales por la vía hematogena parece ser independiente de la diseminación linfática, y que las diferencias en el fenotipo celular permiten discriminar a las poblaciones celulares con alto y bajo potencial metastásico, así como determinar la dirección preferencial de la diseminación tumoral celular. Además de la vía de diseminación, se han propuesto diversos mecanismos moleculares necesarios para que las células tumorales completen el proceso metastásico (Fig. 1).

– **Invasión local de la matriz extracelular:** Las mutaciones en genes que codifican para proteínas de adhesión matriz-célula y célula-célula, así como los cambios en la matriz extracelular y en el microambiente tumoral, permiten la invasión local.^{6,10} En la

invasión local las células de cáncer mamario se diseminan al estroma y tejido normal circundante del tumor primario, al inducir el adelgazamiento y linealización o, inclusive, la ruptura de la membrana basal.⁶

- **Migración de células tumorales:** Puede llevarse a cabo mediante la migración multicelular o invasión de células individuales. La ocurrencia y frecuencia de los procesos de migración de células tumorales mamarias depende del tipo histológico y de los factores del microambiente subyacente.¹¹ Algunos de los procesos necesarios para que ocurra la migración son la quimiotaxis, la degradación o proteólisis de la matriz extracelular y las modificaciones biomecánicas, que ocurren en respuesta a los cambios en el microambiente y a los factores de regulación, como los miRNAs.¹²
- **Transición epitelio-mesénquima (EMT):** Es un proceso en el que las células pierden sus características epiteliales, incluyendo la adhesión célula-célula, la polaridad apical-basal y la pérdida de motilidad, para adquirir propiedades mesenquimales tales como invasividad, resistencia a la apoptosis y motilidad.¹³ La EMT facilita la migración de las células tumorales mamarias y la invasión del microambiente que le rodea al debilitar la cohesión célula-célula, además de incrementar la capacidad de degradación de la matriz extracelular y modificar el citoesqueleto celular.⁶ La EMT favorece la resistencia de las células tumorales a las señales apoptóticas, contribuyendo a la supervivencia de las CTC en el torrente sanguíneo, y es transitoria, ya que las CTC recuperan sus características epiteliales en el órgano distante mediante la transición mesénquimo-epitelial.¹³
- **Invadopodia:** Se describe como los sitios de adhesión celular en forma de rosetas que degradan la matriz extracelular, permitiendo la invasividad y metástasis. Se ha reportado la formación de invadopodia por células tumorales mamarias metastásicas durante la intravasación,¹⁴ en células deficientes de Tsk5 (un marcador de invadopodia) en células que fallan para llevar a cabo la metástasis de cáncer de mama a pulmones y con función alterada de N-WASP (involucrada en invadopodia) que se asocia con la disminución de la invasión e intravasación de células tumorales mamarias.¹⁵
- **Intravasación:** Las células tumorales mamarias pueden cruzar la barrera de las células endoteliales y los pericitos que conforman las paredes de los microvasos. El factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y los macrófagos asociados a tumor (TAM) perivasculares favorecen la intravasación de las células tumorales mamarias. Además, mediante los factores de crecimiento vascular endotelial (VEGF), ciclo-oxigenasa 2 (COX-2), epiregulina (EREG) y metaloproteinasas de matriz 1 y 2 (MMP-1 y MMP-2), las células tumorales estimulan la formación de nuevos vasos sanguíneos, los cuales son tortuosos, con mayor permeabilidad y en constante remodelación, facilitado la intravasación.¹⁶
- **Circulación:** Las CTC modifican la vía de señalización pentosa fosfato y la recaptura de glucosa, suprimen o retrasan *anoikis* (apoptosis inducida por la pérdida de anclaje de la célula a la matriz extracelular o porque las interacciones matriz-célula son insuficientes o inapropiadas),¹⁷ adquieren mayor capacidad de deformación que las células epiteliales normales, evaden la fuerza hemodinámica y la respuesta inmunológica al formar émbolos relativamente grandes cuando entran en contacto con las plaquetas mediante la expresión del factor tisular, L- y P-selectinas, así como la participación de los microtentáculos. Las CTC y las plaquetas forman un microémbolo que, a su vez, incrementa el tiempo que persisten en la circulación hasta su secuestro en tejidos distantes.¹²
- **Secuestro en órganos distantes:** Las CTC son secuestradas (con una predilección por ciertos tejidos específicos) de una forma pasiva debido a las restricciones del tamaño de la vasculatura en los capilares de órganos distantes. Algunas células tumorales forman interacciones adhesivas en sitios particulares, comparten y cooperan con el tejido blanco a través de redes de señalización de citocinas, para determinar el organotropismo de la metástasis.¹⁸ El secuestro de células mamarias metastásicas a distancia es facilitado por las plaquetas y los leucocitos, los cuales forman complejos de L- y P-selectinas con las células tumorales.¹⁹
- **Extravasación:** Las CTC pueden iniciar el crecimiento intraluminal y formar microcolonias que rompen las paredes de los vasos sanguíneos circundantes para ser liberadas hacia el tejido u órgano blanco, o bien, penetrar la capa de células endoteliales y pericitos, mediante el incremento en la expresión de genes que favorecen el remodelamiento de la vasculatura para incrementar su permeabilidad.²⁰
- **Colonización:** Una vez en el tejido u órgano blanco, las células tumorales mamarias establecen una relación bidireccional con el microambiente, suprimen la respuesta inmune, promueven la angiogénesis y liberan factores que promueven el crecimiento, la

supervivencia y la motilidad celular. Como respuesta, el tejido receptor altera su expresión génica para proveer un ambiente favorable para las células tumorales.^{16,20} Las células de cáncer mamario pueden colonizar órganos específicos (pulmón, columna vertebral y cerebro) como consecuencia de las modificaciones en los genes involucrados en la metastásis y que han sido categorizados como de iniciación, progresión y virulencia, siendo estos últimos los que permiten la colonización de los órganos secundarios.^{6,19,20}

- **Latencia metastásica:** Las células tumorales pueden permanecer silentes y viables por un largo periodo, ya que adquieren progresivamente modificaciones genéticas y epigenéticas que les permiten mantenerse en un estado proliferativo y metabólico reducido (impidiendo que la terapia adyuvante las erradique, dado que está dirigida a células con estado proliferativo y metabólico activo).¹⁹

Técnicas para el enriquecimiento y detección de las CTC

Las CTC son escasas, de modo que se requieren pruebas con altos grados de sensibilidad para detectarlas, y de especificidad para disminuir la probabilidad de selección de falsos positivos que arrojen un resultado inseguro en la estimación del pronóstico de enfermedad y respuesta a tratamiento.⁶

Los métodos de enriquecimiento se han desarrollado para incrementar la tasa de aislamiento, tomando en cuenta las diferencias biofísicas (tamaño, peso, densidad, flujo, elasticidad y carga de la superficie celular) y la inmutabilidad (selección positiva: basada en la molécula de adhesión epitelial, EpCAM, y selección negativa: basada en CD45, CD15 y CD66b).⁶ A la fecha, se han desarrollado numerosos métodos de enriquecimiento, incluyendo la separación por tamaño de las células epiteliales con *ISET* (Rarecells Diagnosis) y *ScreenCell* (Sarcelles, Francia); por tamaño e inercia con *CTC iChip* (CytoFluidix); tamaño, deformabilidad e inercia con *ClearCell FX1 System* (Genomax Technologies); por gradiente de densidad con *Ficoll-Hypaque* (GE Healthcare) u *Oncoquick* (Greiner Bio-One); separación inmunomagnética a través de selección positiva, negativa o ambas, mediante el uso de microperlas *MACS Magnetic Activated Cell Sorting System* (Miltenyi, Biotec), perlas *Dynabeads* (Dynak), anticuerpos monoclonales dirigidos contra marcadores de superficie celular específicos *EasySep* (Stem Cell Technology) y *CellSearch* (Veridex), y por la

combinación de gradiente de densidad y selección negativa *RosetteSep* (Stem Cell Technology), entre otros.^{21,22,23} Sin embargo, aun cuando son múltiples y diversos los métodos de enriquecimiento de CTC, es importante tomar en cuenta el análisis o investigación que se realizará después a las células aisladas (por ejemplo: cuantificación, análisis citométrico, análisis de expresión génica, secuenciación, etc.), para seleccionar el método más adecuado. Cabe mencionar que *CellSearch* es el primer y único sistema aprobado para uso clínico por la Administración sobre Alimentos y Drogas de Estados Unidos, (*Food and Drug Administration*, FDA), para la detección de CTC y evaluar el periodo libre de enfermedad y la supervivencia global en pacientes con cáncer de mama, próstata y colorrectal.²³

Una vez que las CTC son enriquecidas y colectadas, se realiza el proceso de identificación para conocer su origen y perfil genético o proteico. Las técnicas actuales de análisis de CTC se basan en la cuantificación (inmunofluorescencia), análisis genómico (secuenciación dirigida de DNA), análisis transcriptómico (hidridación *in situ* de RNA, secuenciación de RNA de células únicas, reacción en cadena de la polimerasa [PCR]), análisis epigenético (secuenciación dirigida con bisulfito), análisis proteómico (ELISA, citometría de masas, *western blot*, espectroscopía de masas de células únicas) y análisis multimodal (recaptura de glucosa, análisis de proteínas, análisis mutacional y análisis de imágenes de alta resolución de preparaciones celulares no purificadas).⁶

Los métodos basados en PCR son los más empleados para la detección de CTC, ya que pueden alcanzar sensibilidad para detectar una célula por cada 10⁶-10⁷ células normales.²² En la actualidad, las técnicas de retrotranscripción-PCR en tiempo real (RT-qPCR) permiten la detección de las CTC a través de la cuantificación precisa de la expresión de biomarcadores de células epiteliales o específicos de cáncer mamario.

Los marcadores epiteliales suelen ser expresados por todas las células tumorales de origen epitelial, e incluyen EpCAM, diversas citoqueratinas (CK6, CK7, CK8, CK18, CK19 y CK20), marcadores de superficie (CD45, CD15 y CD66b) y el antígeno epitelial de membrana (EMA).⁶ Respecto a los marcadores específicos de cáncer de mama, se han propuesto: HER2/Neu, mamoglobina, mucina y maspina, entre otros. Sin embargo, los marcadores considerados específicos de tumor no se expresan solo en las células tumorales, sino también en algunas células normales, incluyendo los leucocitos, aunque en un nivel más bajo, por lo que

puede existir la posibilidad de que se produzcan señales falsas-positivas. Por esta razón se han propuesto como marcadores específicos las alteraciones genéticas y epigenéticas, mismas que se encuentran de manera exclusiva en las células tumorales mamarias.⁶ Además, el uso de un panel multimarcador incrementa la sensibilidad y especificidad para la detección de CTC con un potencial uso clínico para el diagnóstico y el monitoreo de la respuesta al tratamiento en pacientes con cáncer de mama.⁶

Aplicaciones clínicas de las CTC en cáncer de mama

La presencia de células tumorales ocultas al momento del diagnóstico en pacientes con cáncer de mama en estadios tempranos, es la mayor causa de enfermedad metastásica recurrente en pacientes con resección del tumor primario. La detección de la recurrencia temprana permite el inicio del tratamiento para incrementar la supervivencia y mejorar la calidad de vida,⁶ por lo que la cuantificación de CTC ha sido propuesta como una prueba no invasiva para el diagnóstico, la estimación del pronóstico, el monitoreo de recurrencia de la enfermedad y la respuesta a la terapia anticancer.^{6,24} Se ha demostrado que el valor pronóstico de la detección de CTC puede llegar a ser superior a los factores pronósticos conocidos (sitio de metástasis y estado de los receptores hormonales), y que puede proporcionar mayor información que los métodos convencionales de imagen para la evaluación de respuesta al tratamiento.²⁵ A continuación se revisan algunos de los estudios en los que se ha propuesto el potencial uso clínico de la detección de CTC en cáncer de mama temprano y metastásico.

– **Cáncer de mama temprano:** La presencia de CTC en sangre periférica antes de la quimioterapia es un factor de pronóstico adverso para el periodo libre de enfermedad y la supervivencia global, tanto en pacientes con ganglios negativos como en pacientes con ganglios positivos; incluso, se ha propuesto un punto de corte de cinco o más CTC para mayor riesgo de recurrencia.^{5,6,25,26} La cuantificación de CTC también es una herramienta para monitorear la respuesta al tratamiento, ya que la presencia de CTC después de dos años de quimioterapia en pacientes clínicamente libres de enfermedad se ha asociado con mal pronóstico.⁵ Stathopoulou *et al.*²⁷ demostraron que en pacientes con cáncer de mama temprano, en estadios I y II antes de la quimioterapia adyuvante, la presencia de células con expresión positiva a

nivel mRNA de CK19 es un factor de pronóstico independiente para periodo libre de enfermedad y supervivencia global, tanto en pacientes con ganglios negativos, como en pacientes con ganglios positivos. Las células con expresión positiva de mRNA de CK19 fueron detectadas en 29.7% de los pacientes y hubo reducción en el periodo libre de enfermedad ($p = 0.0007$) y supervivencia global ($p = 0.01$). Las mismas características fueron confirmadas por Xenidis *et al.*,²⁸ quienes reportaron que la expresión positiva de mRNA de CK19 en las CTC constituía un factor de pronóstico para un resultado clínico adverso. Más adelante, este mismo grupo demostró, en una cohorte de 444 pacientes, la presencia de CTC detectables en 40.8% de los casos, sin embargo, se observó un impacto adverso en el pronóstico en tumores triple negativos y HER2/Neu negativo, pero no en los tumores con receptores de estrógenos (ER) positivos y HER2/Neu negativos.²⁹

Apostolaki *et al.*³⁰ demostraron la expresión del mRNA de HER2/Neu en las CTC en 21% de los pacientes en estadio I y II de cáncer de mama, después de finalizar su tratamiento con quimioterapia adyuvante. Por otro lado, Xenidis *et al.*²⁹ demostraron que las células con expresión positiva del mRNA de CK19 se encontraban en el 32.7% de los pacientes al finalizar la quimioterapia adyuvante, y su detección se asoció significativamente con incremento en el riesgo de recurrencia y muerte. Ignatidis *et al.*²⁶ evaluaron la expresión y el valor pronóstico de mamoglobina, HER2/Neu y CK19 en 175 pacientes con cáncer de mama en estadios I, II y III antes de iniciar la terapia adyuvante, encontrando células con expresión positiva del mRNA de CK19, mamoglobina y HER2/Neu en 41.1%, 8% y 28.6% de los pacientes, respectivamente. La expresión positiva del mRNA de CK19 y mamoglobina se asoció con un corto periodo libre de enfermedad ($p < 0.001$ y $p = 0.001$) y menor supervivencia global ($p = 0.044$ y 0.034), mientras que la expresión positiva del mRNA de HER2/Neu se asoció con un corto periodo libre de enfermedad ($p < 0.001$), pero no con la supervivencia global.

– **Cáncer de mama metastásico:** La detección de CTC en sangre periférica es un predictor independiente de la eficacia de la terapia sistémica y un marcador pronóstico. En pacientes que persisten con un alto nivel de CTC (incluyendo un nivel mayor que el detectado previo al tratamiento) se sugiere resistencia a la quimioterapia, por lo que debe cambiarse a una nueva línea de tratamiento.^{5,25,26} Las pacientes con cáncer de mama metastásico con más de 5

CTC/7.5 mL de sangre periférica al momento del diagnóstico, e incluso siete a nueve semanas después del inicio de la terapia sistémica, tienen corta supervivencia libre de progresión y alta incidencia de progresión radiográfica de la enfermedad,⁵ además la presencia de CTC se ha asociado con mayor número de recurrencias y muertes relacionadas a enfermedad.²⁹ Cristofanilli *et al.*²⁵ mostraron que un mayor número de CTC en sangre periférica de pacientes con cáncer de mama metastásico se asocia con mal pronóstico, independientemente del número de tratamientos previos, el sitio de metástasis, el tipo de terapia y el tiempo de recurrencia después de la cirugía inicial. La tasa de positividad de CTC fue similar en pacientes con diagnóstico reciente de cáncer de mama metastásico (52%) que en aquellos que ya se encontraban recibiendo tratamiento (48%). Otro estudio demostró la asociación significativa de la expresión positiva del mRNA de CK19 con la recaída clínica ($p < 0.001$) y muerte relacionadas a enfermedad ($p < 0.001$). Los pacientes con CTC con expresión positiva del mRNA de CK19 después de la quimioterapia tienen periodos libres de enfermedad más cortos ($p < 0.001$) y menor supervivencia global ($p = 0.001$). Liu *et al.*³¹ reportaron que la presencia de más de cinco CTC detectadas en el momento inicial, tres a cinco semanas, y siete a nueve semanas después del inicio de la terapia sistémica adyuvante en pacientes con cáncer de mama metastásico, se asociaba con menor periodo libre de progresión y alta incidencia de progresión radiográfica de la enfermedad frente a aquellas que tenían menos de cinco CTC.

Importancia de las CTC en el manejo quirúrgico, anestésico y perioperatorio del cáncer de mama

El tratamiento quirúrgico es capaz de extirpar totalmente el tumor primario, los ganglios linfáticos metastásicos y conseguir una citorreducción macroscópica completa, sin embargo el 90% de las muertes relacionadas con cáncer mamario son debidas a metástasis y no al tumor primario. Paradójicamente, la cirugía oncológica curativa puede contribuir a la diseminación metastásica por la propia manipulación quirúrgica tumoral y por la inmunosupresión perioperatoria inducida por la anestesia.³² La cirugía desencadena una respuesta neuroendócrina debida a la activación del sistema nervioso simpático y del eje hipotálamo-hipofisis-adrenal, con la liberación de catecolaminas,

Cuadro I. Factores asociados con inmunosupresión y diseminación de CTC^{8,32}

Factores quirúrgicos	Factores anestésicos
Cirugía invasiva (mayor riesgo que la cirugía mínimamente invasiva)	Transfusión sanguínea perioperatoria
	Hipotermia
	Inadecuado control del dolor y estimulación nociceptiva
	Estrés psicológico
	Anestesia general (mayor riesgo que con uso de analgesia regional y anestésicos locales)
	Uso de AINE (menor riesgo al usarlos)
	Bloqueo Beta-adrenérgico (menor riesgo al usarlos, preferentemente en combinación con inhibidores de COX-2)

AINE: antiinflamatorios no esteroideos; COX-2: ciclo-oxigenasa 2

hormona adrenocorticotrópica, cortisol y prostaglandina E₂, situación que suprime la inmunidad celular e incrementa la secreción de citocinas inmunosupresoras y citocinas proinflamatorias, sustancias que promueven la angiogénesis y la metástasis tumoral.⁸

Aún cuando los macrófagos, los monocitos, los neutrófilos y las células asesinas naturales (NK) mantienen bajo presión a las CTC, estas son capaces de desarrollar mecanismos de defensa y evasión inmunológica. Además, las CTC sobreexpresan proteínas que inhiben la actividad fagocítica de las células inmunológicas y regulan negativamente la expresión del antígeno de histocompatibilidad mayor clase I. Mediante la expresión de proteínas de señalización vascular, las CTC pueden atraer las células madre hematopoyéticas que expresan el receptor del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGFR), que influye en los fibroblastos en el sitio potencialmente metastásico, creando un microambiente favorable.⁸ El manejo perioperatorio durante la cirugía oncológica es importante, dado que durante la resección tumoral existen factores potencialmente modificables que pueden contribuir a mejorar la respuesta inmunológica, reducir o evitar la diseminación de las CTC y disminuir la probabilidad de recurrencia (Cuadro I).^{32,33}

Durante el periodo intraoperatorio, los fármacos utilizados en el proceso anestésico producen múltiples efectos sobre el sistema inmunológico (Cuadro II). La anestesia general consiste en la administración de anestésicos intravenosos (por ejemplo, tiopental o propofol) para la inducción, seguidos de relajantes

Cuadro II. Fármacos anestésicos y su relación con la respuesta inmune^{8,32}

Fármaco	Células NK		Linfocitos T
	Conteo	Actividad	
Ketamina	↓	↓	↑ Apoptosis
Tiopental	↓	↓	↓ Apoptosis
Propofol	→	→	↑ Actividad de LCT
Midazolam			→ Actividad de LCT
Halotano	↓	↓	
Isoflurano	↓	↓	↑ Apoptosis
Sevoflurano	↓	↓	↑ Apoptosis
Morfina	↓	↓	↓ Diferenciación de Th
Fentanil	↓	↓	↑ Tregs
Sufentanil	↓	↓	↑ Tregs
Alfentanil	↓	↓	↓ Proliferación
Remifentanil	↓	↓	
Tramadol	↑	↑	
Inhibidores de COX-2	↓	↓	↑ Actividad de LCT
Bloqueadores Beta-adrenérgicos	↓	↓	↓ Número y función supresora de MDSC
Lidocaína	↑	↑	

NK: Asesinas naturales; Th: Células T ayudadoras; Tregs: Células regulatorias T CD4+, CD25+ y Foxp3+; LCT: Linfocitos citotóxicos; MDSC: Células supresoras derivadas mieloides.

musculares e intubación endotraqueal, administración de anestésicos volátiles (por ejemplo, sevoflurano) y opioides para mantenimiento y control del dolor;³⁴ mientras que en la anestesia regional se utilizan anestésicos locales (por ejemplo, lidocaína o bupivacaina) para bloquear la transmisión nerviosa periférica o espinal y producir un bloqueo paravertebral o epidural.⁸ Se ha observado que los anestésicos locales previenen el dolor quirúrgico y reducen el estrés neuroendócrino, al suprimir la transmisión aferente neural al sistema nervioso central, evitando la respuesta del sistema nervioso simpático y del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, y por lo tanto reducen la inmunosupresión durante la cirugía.⁸

Cuadro III. Mecanismos de la analgesia regional y anestésicos locales sobre la diseminación tumoral³⁷

Analgesia regional	Anestésicos locales
↓ Respuesta neuroendócrina	↓ Respuesta a estrés
Preserva la función inmunológica (incluyendo la citotoxicidad de las células NK)	↓ Efecto del EGFR ↓ Proliferación celular ↓ Diferenciación ↓ Progresión tumoral ↓ Invasión celular y metástasis
↓ Uso de analgésicos opioides	↓ Activación de canales de sodio ↑ Activación de canales de calcio y potasio ↓ Invasión metastásica
↓ Liberación de opioides endógenos	↓ Señalización de SRC ↓ Adhesión célula-célula ↓ División celular en fibroblastos ↓ Progresión tumoral ↓ Invasión celular y metástasis
Conserva la apoptosis de células tumorales	↑ Desmetilación de células tumorales ↑ Activación de genes tumor supresores ↓ Progresión tumoral

NK: Asesinas naturales; EGFR: Receptor del factor de crecimiento epidérmico. SRC: SRC proto-oncogen no receptor tirosina quinasa.

En general, el manejo anestésico no solo tiene repercusiones inmunológicas a corto plazo, sino también en la recurrencia y pronóstico a largo plazo al relacionarse con la diseminación de CTC^{35,36} (Fig. 2).

El uso de anestesia regional evita gran parte de la respuesta al estrés neuroendócrino producido por la cirugía, conserva la función de las células NK prácticamente intacta, logra un alivio significativamente mayor del dolor (comparado con opioides), disminuye la liberación de opioides endógenos y reduce el consumo de anestésicos volátiles^{8,32,37} (Cuadro III).

Además de la técnica anestésica, el control inadecuado del dolor, el uso de opioides, la utilización indiscriminada de transfusión sanguínea, la hipotermia y el estrés psicológico, son factores que contribuyen a la inmunosupresión y, por lo tanto, a la diseminación de las CTC. El dolor por sí mismo produce una supresión de las células NK; sin embargo, el control del mismo con opioides es una de las estrategias más efectivas de tratamiento de dolor severo en pacientes con cáncer, por lo que su uso en este grupo de pacientes aún es controversial. La morfina ha mostrado efectos tanto

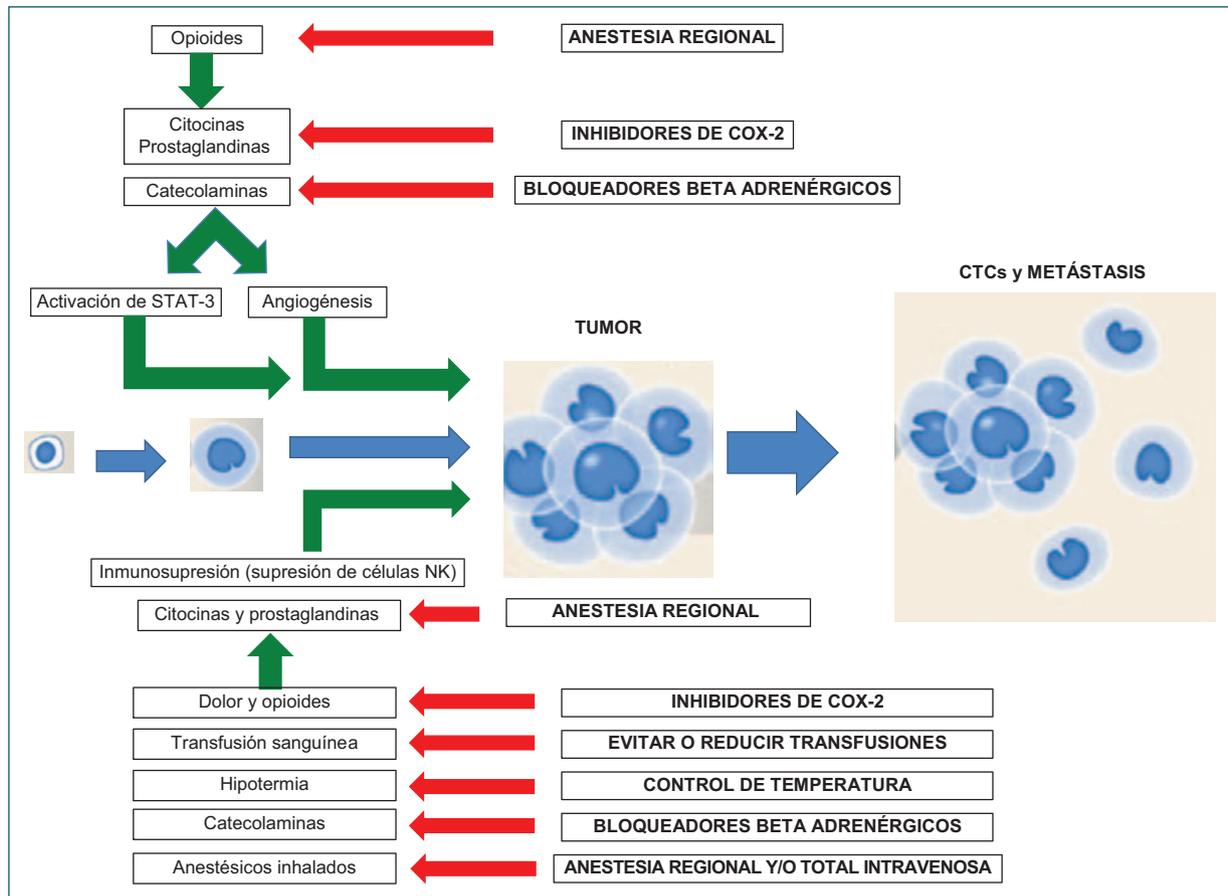


Figura 2. Factores perioperatorios que favorecen (flechas verdes) o reprimen (flechas rojas) el proceso metastásico.

promotores (inhibición de apoptosis y estimulación de angiogénesis) como inhibitorios del crecimiento tumoral (promueve apoptosis, inhibe angiogénesis y migración de células tumorales). Al parecer, los efectos inhibitorios de los agonistas de receptores de opioides y de la morfina sobre la proliferación de células tumorales ocurre a través de los receptores κ - y δ - opioides, mientras que la promoción de la angiogénesis, el crecimiento tumoral y la metástasis es mediada por los receptores μ , localizados en las células del endotelio vascular, que al ser activados producen liberación del VEGF y aumento en la tasa de crecimiento tumoral, se incrementa la migración de células endoteliales y también se afecta la inmunidad celular y humoral.³⁸

Respecto a la transfusión sanguínea, esta produce efectos inmunosupresores e inmunomoduladores, con reducción de la actividad de los monocitos y linfocitos T. En cualquier ámbito quirúrgico, con el uso de transfusión intraoperatoria, se ha reportado aumento de la

morbimortalidad, principalmente por complicaciones pulmonares, sepsis, o tromboembolia, relacionados con los efectos inmunológicos que conlleva.³⁸ Incluso, la inmunomodulación relacionada con transfusión puede incrementar el riesgo de metástasis y tener repercusiones en el pronóstico, como reportó un estudio sobre el riesgo de recurrencia de cáncer asociado al uso de transfusión sanguínea perioperatoria (OR: 1.42, IC95%: 1.20-1.67).³⁹ Así, una transfusión sanguínea (independientemente de que la sangre sea alógena, autógena o reducida en leucocitos), debe indicarse lo más juiciosamente posible, evaluando los riesgos y beneficios.

En cuanto a la hipotermia, se ha reportado asociada a mayor riesgo de infecciones y de pérdida sanguínea, además de reducir la funcionalidad de las células NK. La hipotermia intensa tiene efectos sobre el sistema inmune al disminuir la quimiotaxis, la fagocitosis de los neutrófilos y la producción de anticuerpos, así como

sobre el sistema neuroendócrino, al aumentar los niveles de catecolaminas circulantes. La hipotermia se considera un efecto frecuente de la anestesia general ya que se altera el centro termorregulador, situación que no se produce con la anestesia local; sin embargo, todos los pacientes deben tener control adecuado de la temperatura. Dado que la temperatura en los quirófanos normalmente es entre 19 y 21 grados C, el mantenimiento de la temperatura corporal de los pacientes (en especial los pacientes con cáncer), con compresas o sábanas térmicas es relevante y efectivo, tanto para la prevención de infecciones como para el uso de antibióticos.³⁸

Por otro lado, existen factores inmunoprotectores, además del uso de anestesia regional y analgesia local, como el uso de anestesia intravenosa con propofol, la utilización de inhibidores de COX-2, el uso de anestésicos locales, beta-bloqueadores y estatinas.

Lee *et al.*⁴⁰ compararon la utilización de anestésicos inhalados frente a la anestesia intravenosa en pacientes sometidas a mastectomía radical y reportan menor tasa de recurrencia (HR: 0.550, IC95%: 0.311-0.973) en el grupo de pacientes con anestesia intravenosa, por lo que esta última se convirtió en la técnica de elección en las pacientes con cáncer de mama.

El uso de beta-bloqueadores tiene efecto sobre la respuesta al estrés y el crecimiento tumoral, sin embargo, el uso conjunto de estos con inhibidores de COX-2 mejora la competencia inmunológica y reduce el riesgo de metástasis después de la cirugía en modelos animales. Al parecer, los beta-bloqueadores inhiben la liberación de catecolaminas al reducir la transducción de señales y el activador de la transcripción 3 (STAT-3). Los STAT son una familia de factores de transcripción que regulan la expresión génica de algunas vías inmunológicas.³²

El uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINE) en el manejo del dolor posoperatorio desempeña un papel muy importante, sobre todo en esquemas multimodales. La inhibición de COX-2 mediante la administración de celecoxib, reduce los efectos inmunológicos y el crecimiento tumoral (inducción de apoptosis, disminución de los niveles de factores angiogénicos y disminución de la densidad microvascular tumoral) inducido por la morfina, con el consecuente incremento en la supervivencia. También se ha demostrado la disminución de los efectos promotores de metástasis asociados a la cirugía mediante el uso de indometacina, sin embargo sus potenciales efectos adversos limitan su uso perioperatorio.³²

Por último, se ha reportado una reducción en la incidencia de cáncer colorrectal, de próstata, de piel y de mama con el uso de estatinas. Al parecer, las estatinas tienen efectos antiangiogénicos, antiinflamatorios e inmunomoduladores sobre la adhesión, mediadores inflamatorios, complejo mayor de histocompatibilidad II, citocinas de Th1 y Th2, así como proteína C reactiva. Las estatinas parecen inducir la apoptosis e inhibir la proliferación al regular diversas vías de señalización en células malignas.³²

Conclusión

El estudio de CTC ofrece las ventajas de una prueba en sangre periférica, que incluye su fácil acceso y monitoreo. Tomando en cuenta el proceso metastásico, la cuantificación y análisis de las CTC tiene implicaciones importantes en el pronóstico, la respuesta a tratamiento y en la identificación de nuevos blancos terapéuticos en pacientes con cáncer de mama. En la actualidad, el manejo oncológico se basa en las características del tumor primario, sin embargo, las células tumorales por sí mismas son heterogéneas y con frecuencia experimentan cambios relacionados con la presión selectiva e inmune, por lo que el estudio de las CTC puede proporcionar información útil para ajustar el tratamiento.

Dada la íntima relación que existe entre la respuesta inmune y la diseminación de las CTC, el establecimiento de estrategias que reduzcan la inmunosupresión asociada a la enfermedad, tratamiento quirúrgico y manejo anestésico, puede tener implicaciones importantes en el pronóstico a corto y largo plazo en pacientes con cáncer de mama.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Manuel Méndez Montes (Diseñador gráfico de la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 4 "Dr. Luis Castelazo Ayala" del IMSS), por su apoyo en la elaboración de las figuras.

Conflicto de intereses

Los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflicto potencial de intereses del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno que tuviera relación con este artículo.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Referencias

1. Rangel-Méndez JA, Novelo-Tec JF, Sánchez-Cruz JF, Cedillo-Rivera R, Moo-Puc RE. Healthcare delay in breast cancer patients: a case study in a low-density population region from Mexico. *Future Oncol.* 2018;14(20):2067-82. doi: 10.2217/fon-2017-0713.
2. Wang G, Benasutti H, Jones JF, Shi G, Benchimol M, Pingle S, et al. Isolation of breast cancer CTC with multitargeted buoyant immunomicrobubbles. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2018;161:200-9. doi: 10.1016/j.colsurfb.2017.10.060.
3. Bernards R, Weinberg RA. A progression puzzle. *Nature.* 2002;418(6900):823. doi: 10.1038/418823a.
4. Lin H, Balic M, Zheng S, Datar R, Cote RJ. Disseminated and circulating tumor cells: Role in effective cancer management. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2011;77(1):1-11. doi: 10.1016/j.critrevonc.2010.04.008.
5. Banys-Paluchowski M, Krawczyk N, Fehm T. Potential role of circulating tumor cell detection and monitoring in breast cancer: a review of current evidence. *Front Oncol.* 2016;6:255. doi: 10.3389/fonc.2016.00255.
6. López-Muñoz E, Méndez-Montes M. Markers of circulating breast cancer cells. *Adv Clin Chem.* 2013;61:175-224.
7. Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer.* 2003;3(6):453-8. doi: 10.1038/nrc1098.
8. Kim MY, Oskarsson T, Acharyya S, Nguyen DX, Zhang XH, Norton L, et al. Tumor self-seeding by circulating cancer cells. *Cell.* 2009;139(7):1315-26. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.025.
9. Hartkopf AD, Banys M, Krawczyk N, Staebler A, Becker S, Hoffmann J, et al. Bone marrow versus sentinel lymph node involvement in breast cancer: a comparison of early hematogenous and early lymphatic tumor spread. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;131(2):501-8. doi: 10.1007/s10549-011-1802-x.
10. Nguyen-Ngoc KV, Cheung KJ, Brenot A, Shamir ER, Gray RS, Hines WC, et al. ECM microenvironment regulates collective migration and local dissemination in normal and malignant mammary epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012;109(39):E2595-E2604. doi: 10.1073/pnas.1212834109.
11. Roussos ET, Condeelis JS, Patsialou A. Chemotaxis in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2011;11(8):573-87. doi: 10.1038/nrc3078.
12. Valastyan S, Weinberg RA. Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms. *Cell.* 2011;147(2):275-92. doi: 10.1016/j.cell.2011.09.024.
13. Polyak K, Weinberg RA. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits. *Nat Rev Cancer.* 2009;9(4):265-73. doi: 10.1038/nrc2620.
14. Yamaguchi H, Lorenz M, Kemplak S, Sarmiento C, Coniglio S, Symons M, et al. Molecular mechanisms of invadopodium formation: the role of the N-WASP-Arp2/3 complex pathway and cofilin. *J Cell Biol.* 2005;168(3):441-52. doi: 10.1083/jcb.200407076.
15. Gligorijevic B, Wyckoff J, Yamaguchi H, Wang Y, Roussos ET, Condeelis J. N-WASP-mediated invadopodium formation is involved in intravasation and lung metastasis of mammary tumors. *J Cell Sci.* 2012;125(Pt 3):724-34. doi: 10.1242/jcs.092726.
16. Gupta GP, Nguyen DX, Chiang AC, Bos PD, Kim JY, Nadal C, et al. Mediators of vascular remodeling co-opted for sequential steps in lung metastasis. *Nature.* 2007;446(7137):765-70. doi: 10.1038/nature05760.
17. Guo W, Giancotti FG. Integrin signaling during tumour progression. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2004;5(10):816-26. doi: 10.1038/nrm1490.
18. Lu X, Kang Y. Organotropism of breast cancer metastasis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2007;12(2-3):153-62. doi: 10.1007/s10911-007-9047-3.
19. Lorusso G, Rüegg C. New insights into the mechanisms of organ-specific breast cancer metastasis. *Semin Cancer Biol.* 2012;22(3):226-33. doi: 10.1016/j.semcancer.2012.03.007.
20. Nguyen DX, Bos PD, Massagué J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nat Rev Cancer.* 2009;9(4):274-84. doi: 10.1038/nrc2622.
21. Hou HW, Warkiani ME, Khoo BL, Li ZR, Soo RA, Tan DS, et al. Isolation and retrieval of circulating tumor cells using centrifugal forces. *Sci Rep.* 2013;3:1259. doi: 10.1038/srep01259.
22. Arya SK, Lim B, Rahman AR. Enrichment, detection and clinical significance of circulating tumor cells. *Lab Chip.* 2013;13(11):1995-2027. doi: 10.1039/c3lc00009e.
23. Yin J, Wang Z, Li G, Lin F, Shao K, Cao B, et al. Characterization of circulating tumor cells in breast cancer patients by spiral microfluidics. *Cell Biol Toxicol.* 2019;35(1):59-66. doi: 10.1007/s10565-018-09454-4.
24. Brooks SA, Lomax-Browne HJ, Carter TM, Kinch CE, Hall DM. Molecular interactions in cancer cell metastasis. *Acta Histochem.* 2010;112(1):3-25. doi: 10.1016/j.acthis.2008.11.022.
25. Cristofanilli M, Hayes DF, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Reuben JM, et al. Circulating tumor cells: a novel prognostic factor for newly diagnosed metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23(7):1420-30. doi: 10.1200/JCO.2005.08.140.
26. Ignatiadis M, Kallergi G, Ntoulia M, Perraki M, Apostolaki S, Kafousi M, et al. Prognostic value of the molecular detection of circulating tumor cells using a multimer reverse transcription PCR assay for cytokeratin 19, mammaglobin A, and HER2 in early breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2008;14(9):2593-2600. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4758.

27. Stathopoulou A, Vlachonikolis I, Mavroudis D, Perraki M, Kouroussis Ch, Apostolaki S, et al. Molecular detection of cytokeratin-19-positive cells in the peripheral blood of patients with operable breast cancer: evaluation of their prognostic significance. *J Clin Oncol.* 2002;20(16):3404-12. doi: 10.1200/JCO.2002.08.135.
28. Xenidis N, Perraki M, Kafousi M, Apostolaki S, Bolonaki I, Stathopoulou A, et al. Predictive and prognostic value of peripheral blood cytokeratin-19 mRNA-positive cells detected by real-time polymerase chain reaction in node-negative breast cancer patients. *J Clin Oncol.* 2006;24(23):3756-62. doi: 10.1200/JCO.2005.04.5948.
29. Xenidis N, Ignatiadis M, Apostolaki S, Perraki M, Kalbakis K, Agelaki S, et al. Cytokeratin-19 mRNA-positive circulating tumor cells after adjuvant chemotherapy in patients with early breast cancer. *J Clin Oncol.* 2009;27(13):2177-84. doi: 10.1200/JCO.2008.18.0497.
30. Apostolaki S, Perraki M, Pallis A, Bozionelou V, Agelaki S, Kanellou P, et al. Circulating HER2 mRNA-positive cells in the peripheral blood of patients with stage I and II breast cancer after the administration of adjuvant chemotherapy: evaluation of their clinical relevance. *Ann Oncol.* 2007;18(5):851-8. doi: 10.1093/annonc/mdl502.
31. Liu MC, Shields PG, Warren RD, Cohen P, Wilkinson M, Ottaviano YL, et al. Circulating tumor cells: a useful predictor of treatment efficacy in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2009;27(31):5153-9. doi: 10.1200/JCO.2008.20.66664.
32. Gottschalk A, Sharma S, Ford J, Durieux M, Tiouririne M. The role of the perioperative period in recurrence after cancer surgery. *Anesth Analg.* 2010;110(6):1636-43. doi: 10.1213/ANE.0b013e3181de0ab6.
33. Zhou D, Gu FM, Gao Q, Li QL, Zhou J, Miao CH. Effects of anesthetic methods on preserving anti-tumor T-helper polarization following hepatectomy. *World J Gastroenterol.* 2012;18(24):3089-98. doi: 10.3784/wjg.v18.i24.3089.
34. Tavare AN, Perry NJ, Benzonana LL, Takata M, Ma D. Cancer recurrence after surgery: direct and indirect effects of anesthetic agents. *Int J Cancer.* 2012;130(6):1237-50. doi: 10.1002/ijc.26448.
35. Schlagenhauff B, Ellwanger U, Breuninger H, Stroebel W, Rassner G, Garbe C. Prognostic impact of the type of anaesthesia used during the excision of primary cutaneous melanoma. *Melanoma Res.* 2000;10(2):165-9.
36. de Oliveira GS Jr., Ahmad S, Schink JC, Singh DK, Fitzgerald PC, McCarthy RJ. Intraoperative neuraxial anesthesia but not postoperative neuraxial analgesia is associated with increased relapse-free survival in ovarian cancer patients after primary cytoreductive surgery. *Reg Anesth Pain Med.* 2011;36(3):271-7. doi: 10.1097/AAP.0b013e318217aada.
37. Byrne K, Levins KJ, Buggy DJ. Can anesthetic-analgesic technique during primary cancer surgery affect recurrence or metastasis? *Can J Anesth.* 2016;63(2):184-92. doi: 10.1007/s12630-015-0523-8.
38. Zhang XY, Liang YX, Yan Y, Dai Z, Chu HC. Morphine: double-faced roles in the regulation of tumor development. *Clin Transl Oncol.* 2018;20(7):808-14. doi: 10.1007/s12094-017-1796-x.
39. Amato A, Pescatori M. Perioperative blood transfusions for the recurrence of colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006;1:CD00033. doi: 10.1002/14651858.CD005033.pub2.
40. Lee JH, Kang SH, Kim Y, Kim HA, Kim BS. Effects of propofol-based total intravenous anesthesia on recurrence and overall survival in patients after modified radical mastectomy: a retrospective study. *Korean J Anesthesiol.* 2016;69(2):126-32. doi: 10.4097/kjaes.2016.69.2.126.

Cómo citar este artículo:

López-Muñoz E, Mejía-Terrazas GE. Células tumorales circulantes en cáncer de mama. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2020;58 Supl 1:S51-61.