

Hormonodependencia en líneas celulares tumorales mamarias y prostáticas

N. Olea*, J. M. Ruiz de Almodóvar y V. Pedraza

Departamento de Radiología
Facultad de Medicina
Universidad de Granada
18071 Granada (España)

(Recibido el 19 de diciembre de 1989)

N. OLEA, J. M. RUIZ DE ALMODOVAR and V. PEDRAZA. *Hormonodependence in Mammary and Prostatic Tumoural Cell Lines*. Rev. esp. Fisiol., 46 (1), 83-88, 1990.

Knowledge about the role of sex hormones in the control of cell proliferation and cell-type specific protein synthesis is mainly collected by using cell culture techniques. The adoption of cell culture models addressed at defining these issues is due to the uncomplicated assessment of reliable proliferation-related parameters. Established cell lines derived from estrogen and androgen sensitive tissues, have been used in proliferation studies for more than thirty years. The data gathered so far can be summarized in three following working hypotheses: the direct and indirect-positive hypotheses and the indirect-negative hypothesis. Further characterization and assessment of the hormonodependence of growth factors and growth inhibitors will allow for the mechanistic understanding of the regulation of cell proliferation by sex hormones.

Key words: Hormone-dependence, Breast cancer, Prostate cancer, Cell lines.

La proliferación celular, fenómeno fisiológico básico presente en una gran variedad de situaciones —desarrollo embriológico, procesos de cicatrización, renovación tisular, etc.— tiene su paradigma en el crecimiento neoplásico. Mientras que durante los últimos años se ha obtenido abundante información sobre lo que ocurre durante el proceso de división celular, es escaso el conocimiento de la señal(s) que determina el devenir proliferativo de cualquier célula. La información a este respecto, deberá ser extraída de modelos experimentales en los cuales, con la manipulación de unas variables simples, sea

fácil determinar la causalidad última del proceso proliferativo. Tales modelos deben cumplir al menos dos requisitos: a) reflejar un fenómeno fisiológico que ocurre en el ser vivo y b) conocer el agente proximal que origina la proliferación celular (17). Las hormonas sexuales proveen un buen modelo para el estudio de los mecanismos de control de la proliferación celular ya que son entidades moleculares bien definidas que pueden ser usadas como desencadenantes de la división celular en sus órganos diana.

MODELOS EXPERIMENTALES

Los modelos animales tienen un valor limitado debido a las complejas interaccio-

* A quien debe dirigirse toda la correspondencia.

nes entre los numerosos tejidos subsidiarios de las hormonas sexuales, lo que trae consigo una gran dificultad para definir la causalidad en el proceso proliferativo. Con objeto de superar esta limitación se han adoptado para la aproximación experimental, modelos basados en células humanas cultivadas en medio suplementado con suero o plasma homólogo o heterólogo. De los modelos de cultivo —primocultivos, cultivos de órganos y líneas celulares clonadas y establecidas *in vitro*— los dos primeros, aún presentan una complejidad que no permite discriminar entre las muchas interacciones de las hormonas sexuales y los diferentes tipos celulares que los forman. Las líneas celulares clonadas y establecidas *in vitro*, por su parte, son un ejemplo típico de reduccionismo aplicado a los estudios en cuestión. La parcelación de las preguntas usando la

propiedad de ciertas células de crecer *in vitro* cuando mantenidas en un arbitrario conjunto de nutrientes, resulta en el diseño de experimentos en los cuales la adición al medio o la sustracción de él en un ingrediente o putativa señal, seguido de la medida del parámetro a estudiar y su fluctuación, permite interpretar la alteración originada como una consecuencia directa del cambio introducido en el sistema. No se pueden resolver problemas sin disecar el sistema en sus componentes, aunque esto traiga consigo, en ciertas ocasiones, una mayor dificultad para entender la interacción de todos los elementos dentro del conjunto (9).

No son numerosas las líneas celulares humanas establecidas que en el momento presente son utilizadas como modelo experimental en los estudios de hormono-dependencia. La dificultad de su estable-

Tabla I. Hormonosensibilidad y fenotipo receptor (estrógenos -ER-, progesterona -PgR- y andrógenos -AR-) de algunas líneas celulares de mama y próstata de uso corriente en estudio de hormonodependencia.

Línea celular	Tejido de origen ¹	Sensibilidad hormonal en animal ²	Receptores		
			ER	PgR	AR
Cáncer de mama					
MCF7	DP				
-C7					
T47D	DP	+	+	+	+
-A11		+	+	+	+
-P135		+	+	+	?
ZR75-1	A	+	+	+	+
Cama-1	DP	+	+	+	?
MDA-MB134	DP	+	+	+	?
MDA-MB330	DP	-	-	-	-
MDA-MB231	DP	-	-	-	-
BT-20	T	-	-	-	-
EVSA-T	A	-	-	-	-
Cáncer de próstata					
LNCaP	MG				
-FGC		+	-	-	+
PC-3	MO	-	-	-	-

¹ Lugar de toma de las células para iniciar la línea: DP: derrame pleural; A: ascitis; T: tumor primario; MG: metástasis ganglionar y MO: metástasis ósea.

² Dependencia hormonal del crecimiento cuando son heterotrasplantadas en el huésped apropiado tratado hormonalmente.

³ Descrita como ER (—), concentración de receptor en límite de detectabilidad.

⁴ RPg no inducido por los estrógenos.

cimiento a partir de los primocultivos y el que muchas de ellas no cumplen los requisitos de hormonosensibilidad que se atribuyen a los tejidos de los que se originaron, motiva que el catálogo de líneas genuinamente hormonosensibles sea muy reducido. La tabla I refleja algunas de las características de líneas celulares de origen mamario (4) y prostático, más comúnmente usadas en cultivos en «monocapa». Se han descrito alternativas a esta modalidad de mantenimiento, resaltando por sus especiales características el cultivo en «suspensión» y más específicamente los esferoides multicelulares (10).

UN SUPUESTO REAL: ANDRÓGENOS Y PRÓSTATA

Los cultivos celulares pueden aportar una información objetiva, que clarifique nuestro conocimiento de los mecanismos de dependencia hormonal. Consideremos, por ejemplo, el estudio de la respuesta a los andrógenos de las células de próstata humana LNCaP (6). El ritmo proliferativo de estas células resulta enlentecido cuando son cultivadas en medio suplementado con 10 % de suero humano si éste ha sido tratado previamente para eliminar los esteroides endógenos (16). La adición de dosis variables del andrógeno DHT da lugar a un incremento en el índice proliferativo que finalmente resulta, tras siete días de cultivo, en un número celular 2-3 veces superior en el grupo tratado con 0,1 nM DHT respecto a los grupos no tratados con la hormona (fig. 1). Paradójicamente el incremento en el nivel de concentración del andrógeno no resulta en un incremento paralelo en el ritmo proliferativo. La adición de 10 nM y cantidades superiores de DHT dan lugar a tasas de crecimiento similares a las obtenidas en los grupos celulares no tratados. Estos fenómenos, son coincidentes con los resultados previamente obtenidos en modelos animales (1), y parecen indicar que los andrógenos tienen un doble efecto sobre los

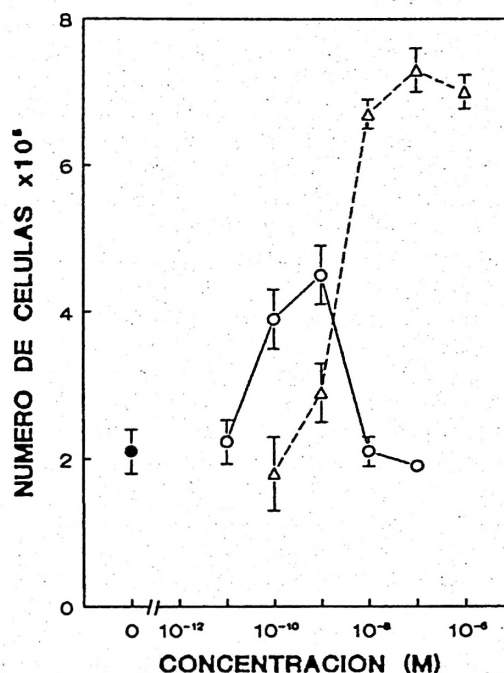


Fig. 1. Curva de dosis/respuesta del efecto del andrógeno DHT (○ - ○) y el estradiol-17β (Δ - Δ) sobre el crecimiento de las células LNCaP.

Estas fueron mantenidas durante 168 h en medio de Eagle con las modificaciones de Dulbecco, suplementado con 10 % de suero humano previamente desprovisto de hormonas endógenas. Al fin de la fase de crecimiento exponencial, se despegaron y lisaron las células. Grupo celular no tratado (●); valores medios y desviaciones estándar (barras).

tejidos subsidiarios de su acción, en principio, a bajas concentraciones, estimulan la proliferación celular, después, a mayor concentración, resultan en su inhibición.

HIPÓTESIS SOBRE EL CONTROL DE LA PROLIFERACIÓN CELULAR

Definido el modelo —los cultivos de células hormonosensibles— y descrito el fenómeno —la dependencia hormonal de la proliferación celular— es tiempo de enunciar las hipótesis que se han barajado para

explicar el efecto proliferativo de los estrógenos y andrógenos sobre sus tejidos subsidiarios. Las siguientes hipótesis han sido propuestas: 1) hipótesis positiva directa, básicamente propone que las hormonas sexuales inducen la proliferación celular por sí mismas, como causa última, actuando a través de receptores específicos que finalmente resultan en la transcripción de genes necesarios para la síntesis de DNA y la progresión en el ciclo divisorio (18); 2) hipótesis positiva indirecta, igualmente, las hormonas inducen la proliferación pero actuando sobre: a) una célula intermediaria que a su vez será capaz de sintetizar ya sea un mediador hormonal —p. e. estromedina (14)—, un factor facilitante —p. e. activador del plasminógeno— o b) la propia célula «blanco», induciendo la síntesis y secreción de un factor autocrino o factor de crecimiento (3). Desde el punto de vista experimental, las asunciones fundamentales de la hipótesis positiva autocrina están condicionadas en sí mismas por el diseño de los experimentos que la sustentan. Así, en los cultivos *in vitro* la quiescencia obtenida en condiciones de carencia nutritiva —cultivos con medios sintéticos, libres o con un aporte mínimo de suero— se dice comparable a la quiescencia del estado G_0 observada en las células de los metazoos *in situ*. 3) la hipótesis negativa asume que lo que ocurre es el fenómeno contrario, en el medio libre de hormonas sexuales, al igual que en el animal castrado, las células están quiescentes porque existen inhibidores de la proliferación celular que dan la señal de parar la proliferación. Cuando el estrógeno o el andrógeno es introducido en el sistema interactúa con el inhibidor, el inhibidor no es reconocido por la célula y en consecuencia ésta es libre para proliferar. Además, estas hormonas limitan su propia respuesta proliferativa actuando directamente en la célula subsidiaria de su acción (17). Este último es un mecanismo directo, mediante el cual la hormona, posiblemente tras su unión al receptor co-

rrespondiente, activa la expresión de genes cuyo producto está relacionado con la supresión de la división celular. Cada vez más frecuentemente, se presentan datos que confirman la presencia de genes que «suprimen el desarrollo de tumores» o genes «supresores» (5). Dentro de este contexto los genes supresores serían equivalentes a aquellos que codifican la proteína(s) responsable de la interrupción de la proliferación celular alcanzados determinados niveles hormonales (17).

Está claro que los postulados que subyacen en las hipótesis positiva y negativa son opuestos. Mientras la aproximación positiva, directa e indirecta, se basa en la asunción de que la célula requiere una señal positiva que la empuje al ciclo divisorio, la hipótesis negativa postula que la célula está siempre lista para proliferar; para hacerlo sólo tiene que estar libre de señales inhibitorias que le impidan entrar en el ciclo divisorio. Las hipótesis positivas requieren que en algún punto una señal negativa sea reconocida. Si adoptamos las premisas de la hipótesis negativa —directa e indirecta— será necesario considerar a la proliferación celular como una propiedad constitutiva dominante de las células y sólo señales negativas determinarán si la proliferación tiene lugar.

Durante las décadas de los años sesenta y setenta, el interés por la caracterización de la respuesta proliferativa de los estrógenos, en sus órganos subsidiarios, tomó gran auge una vez que el concepto de receptor hormonal fuera introducido (7). La identificación de receptores específicos en las células «blanco» fue asumido por muchos como una relación directa de causalidad entre hormonas y proliferación. La interacción hormona/receptor se convirtió en un paso obligado en los mecanismos de dependencia hormonal. Hoy, existe un acuerdo general en que los receptores juegan un papel esencial en la síntesis de proteínas específicas, aunque su papel en el control de la proliferación es, aún, materia de discusión (2, 8, 11-13).

LA VALIDEZ DE UNA HIPÓTESIS

Los datos obtenidos usando el modelo *in vitro* representado por las células LNCaP en cultivo, y complementado con los experimentos de inyección de estas células en ratones inmunodeprimidos, sometidos a diferentes tratamientos hormonales (15), son compatibles con la hipótesis negativa de la proliferación celular. Según ésta: 1) inhibidores plasmáticos de la proliferación parecen jugar un papel primordial en la proliferación de estas células; 2) andrógenos, estrógenos y progestágenos, naturales y sintéticos, cancelan el efecto inhibitor del suero desprovisto previamente de hormonas sexuales; 3) la respuesta proliferativa no parece estar mediada por el receptor androgénico; 4) sólo los andrógenos son capaces de desencadenar los mecanismos de inhibición de la proliferación, cuando testados a concentraciones superiores a aquellas que producen máxima proliferación y 5) el fallo de esta propiedad particular de los andrógenos parece ser causa de la capacidad tumorigénica de las células LNCaP.

Agradecimientos

Queremos agradecer la inapreciable ayuda de los Profesores A. M. Soto y C. Sonnenschein, de Tufts University, en Boston, EE.UU., en la discusión de muchos de los conceptos presentados en este trabajo.

Resumen

El conocimiento actual de los mecanismos mediante los cuales las hormonas sexuales controlan la proliferación y síntesis de productos celulares específicos deriva, fundamentalmente, de los datos experimentales obtenidos de cultivos celulares *in vitro*. Este especial tipo de modelo biológico permite analizar parámetros objetivamente cuantificables y su dependencia respecto a las fluctuaciones de los niveles hormonales en el medio exterior. Gracias al empleo, durante los últimos treinta años, de células de origen tumoral mamario o prostático, establecidas como líneas celulares clonadas, se han enunciado tres hipótesis que tratan de explicar los mecanismos de control hormonal de la proliferación celular: hipó-

tesis positiva directa e indirecta e hipótesis negativa. La primacía de una de ellas se podrá establecer cuando quede definitivamente aclarado el papel que juegan los inhibidores y factores de crecimiento.

Palabras clave: Hormonodependencia, Cáncer de mama, Cáncer de próstata, Líneas celulares.

Bibliografía

1. Bruchovsky, N., Lesser, B., van Doorn, E. y Craven, S.: *Vitam. Horm.*, 33, 61-102, 1975.
2. Darbre, P. D. y King, R. J. B.: *Cancer Res.*, 47, 2.937-2.944, 1987.
3. Dickson, R. B. y Lippman, M. E.: *Endocr. Rev.*, 8, 29-34, 1987.
4. Engel, L. W. y Young, N. A.: *Cancer Res.*, 38, 4.327-4.339, 1978.
5. Hansen, M. F. y Cavanee, W. K.: *Cell*, 53, 172-173, 1988.
6. Horoszewicz, J. S., Leong, S. S., Kawinski, E., Kerr, J. P., Rosenthal, H., Chu, T. M., Mirand, E. A. y Murphy, G. P.: *Cancer Res.*, 43, 1.809-1.818, 1983.
7. Jensen, E. V. y DeSombre, E. R.: *Science*, 182, 126, 1973.
8. Kiino, D. R. y Dannies, P. S.: *Endocrinology*, 109, 1.264-1.269, 1981.
9. Mayr, E.: *The growth of biological thought*. Belknap Harvard Press, Cambridge, Massachusetts, 1982.
10. Olea, N., Villalobos, M., Gómez, M., Ruiz de Almodóvar, J. M. y Pedraza, V.: 79th Annual Meeting American Association for Cancer Research New Orleans, 1988 (Resumen) p. 939.
11. Posner, M., Rosner, A. L., Pellegrini, J. y Burstein, N. A.: *Prog. Cancer Res. Therapy*, 31, 137-146, 1984.
12. Reiner, G. C. A. y Katzenellenbogen, B. S.: *Cancer Res.*, 46, 1.124-1.131, 1986.
13. Shain, S. A. y Huot, R. I.: *J. Steroid Biochem.*, 27, 1-3, 1987.
14. Sirbasku, D. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75, 3.786-3.790, 1978.
15. Sonnenschein, C., Olea, N., Pasanen, M. E. y Soto, A. M.: *Cancer Res.*, 49, 3.474-3.481, 1989.
16. Soto, A. M. y Sonnenschein, C.: *J. Steroid Biochem.*, 23, 87-94, 1985.
17. Soto, A. M. y Sonnenschein, C.: *Endocr. Rev.*, 8, 44-52, 1987.
18. Stack, G. y Gorski, J.: *Endocrinology*, 115, 1.141-1.144, 1984.

