



clínica e investigación en ginecología y obstetricia

www.elsevier.es/gine



ORIGINAL

Eficacia de la suplementación con L-arginina sobre la respuesta a la quimioterapia neoadyuvante en pacientes con cáncer de mama

G. Gutiérrez-Salmeán^{a,*}, M. Autrique^b, V. Fuchs^c y G.M. Ceballos^a

^a Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional, México D.F., México

^b Universidad Iberoamericana, México D.F., México

^c Servicio de Oncología, Hospital General de México, México D.F., México

Recibido el 28 de junio de 2010; aceptado el 26 de julio de 2010

Disponible en Internet el 28 de diciembre de 2010

PALABRAS CLAVE

Cáncer de mama;
Tratamiento
neoadyuvante;
L-arginina;
Óxido nítrico

Resumen

Introducción: El cáncer de mama ocupa el primer lugar en mortalidad por neoplasias en la mujer en México. La quimioterapia neoadyuvante ha reportado una eficacia de alrededor 70%; sin embargo, aquellas pacientes que no responden adecuadamente deben someterse a métodos coadyuvantes que afectan su calidad de vida. El óxido nítrico, brevemente, en concentraciones altas es capaz de tener efectos citotóxicos y tumorocidas, favoreciendo una respuesta adecuada al tratamiento antineoplásico. La L-arginina es precursor del óxido nítrico, por lo que la suplementación puede influir en la síntesis y, por tanto, en su concentración.

Objetivos: Evaluar la eficacia de la suplementación de L-arginina sobre la respuesta al tratamiento con quimioterapia neoadyuvante.

Materiales y métodos: Ensayo clínico de asignación aleatoria que administró un suplemento de 30 g de L-arginina en cada ciclo de quimioterapia neoadyuvante. Se determinó la concentración de nitritos antes y después de ingerir el suplemento, así como el tamaño tumoral antes de iniciar el tratamiento y una vez concluido el mismo. Se realizó una prueba chi-cuadrado para evaluar la asociación entre la suplementación y una respuesta adecuada al tratamiento; los nitritos plasmáticos fueron evaluados mediante pruebas *t*-student.

Resultados: Se evaluaron 45 pacientes. Veintiuno tuvieron una respuesta adecuada al tratamiento oncológico; sin embargo, no se encontró una asociación significativa entre la suplementación y dicha respuesta. La concentración de nitritos plasmáticos aumentó de manera significativa ($p < 0,05$) en el grupo que recibió el suplemento con L-arginina.

Conclusiones: La suplementación con L-arginina modula la síntesis de óxido nítrico y aumenta la concentración plasmática de nitritos. Sin embargo, esta suplementación no tiene asociación significativa con una respuesta adecuada al tratamiento neoadyuvante; de hecho, esta respuesta es menor que aquella reportada en la literatura, probablemente debido a que el tratamiento no es el adecuado para las características específicas del tumor.

© 2010 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia. Plan de San Luis y Díaz Mirón s/n. Col. Santo Tomás, Del. Miguel Hidalgo. México, D.F. 11340. Laboratorio Multidisciplinario de Bioquímica. Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional.

Correo electrónico: gabrielasalmean@yahoo.com (G. Gutiérrez-Salmeán).

KEYWORDS

Breast cancer;
Neoadjuvant
treatment;
L-arginine;
Nitric oxide

Efficacy of L-arginine supplementation on response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer

Abstract

Background: Breast cancer is the first cause of mortality from malignant neoplasms among women in Mexico. Neoadjuvant chemotherapy has a reported efficacy of approximately 70%; however, patients with inadequate response must undergo additional coadjuvant methods that negatively affect their quality of life. High concentrations of nitric oxide have shown cytotoxic and tumoricidal effects, thus favoring an adequate response to antineoplastic treatment. L-arginine is a nitric oxide precursor and therefore supplementation with this substance can augment nitric oxide synthesis and consequently its plasma concentration.

Objectives: To evaluate the efficacy of L-arginine supplementation in response to neoadjuvant chemotherapeutic treatment.

Materials and methods: We conducted a randomized clinical trial in which 30 g of L-arginine was administered in each neoadjuvant chemotherapy cycle. Plasma nitrite concentrations were determined before and after supplementation, as well as tumoral size before the start of anti-neoplastic treatment and after its completion. A chi-square test was performed to evaluate the association between the supplementation and adequate treatment response; plasma nitrites were evaluated by performing Student's T-tests.

Results: Forty-five patients were assessed, of whom 21 had an adequate response to antineoplastic treatment. No statistically significant association was found between supplementation and adequate response. Nitrite concentrations in plasma were significantly increased ($p < 0.05$) in patients receiving the supplement than in those who receiving placebo.

Conclusions: L-arginine supplementation can modulate nitric oxide synthesis and thus elevate plasma nitrite concentrations. However, this supplementation is not associated with an adequate response to neoadjuvant treatment; indeed, in this study, treatment response was lower than that reported in the literature, probably because the antineoplastic therapy was not tailored to specific tumoral characteristics.

© 2010 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

El cáncer de mama se refiere a las neoplasias malignas que se originan a partir del tejido mamario. Esta patología ocupa el primer lugar como causa de morbilidad y mortalidad por cáncer en la mujer, tanto en México como en el ámbito mundial^{1,2}. Alrededor del 80% de las pacientes que se diagnostican se encuentran ya en una etapa avanzada clasificada como *localmente avanzada*^{1,3}; para estas pacientes, el tratamiento antineoplásico inicial consiste en la administración de *quimioterapia neoadyuvante*, la cual tiene como objetivo la reducción del tamaño tumoral y el ataque temprano a las posibles micrometástasis^{4,5}.

Tanto a nivel mundial como nacional, se ha reportado que la quimioterapia neoadyuvante logra una respuesta parcial o completa en alrededor del 70% de las pacientes^{1,4}; sin embargo, aquellas que no tienen una respuesta adecuada se ven obligadas a prolongar el tratamiento con ciclos adicionales de quimioterapia o radiaciones, lo cual puede resultar en diversos efectos secundarios, deteriorando su calidad de vida^{4,6}. Dicha falta de respuesta al tratamiento oncológico ha abierto nuevas posibilidades terapéuticas y áreas de investigación, entre ellas, la *farmaconutrición*.

Esta línea ha propuesto que ciertos nutrientes poseen propiedades farmacológicas capaces de modificar diversas condiciones mediante diferentes mecanismos moleculares. Dentro de las sustancias consideradas *farmaconutrientes* se encuentra la L-arginina⁷⁻¹⁰; ésta participa, entre otras rutas, como precursor del óxido nítrico (NO) al ser meta-

bolizada por una familia de isoenzimas llamadas sintasas de óxido nítrico (NOS). El mecanismo general de las tres isoformas de la NOS consiste en la hidroxilación de un nitrógeno terminal de L-arginina, formando un intermediario NOHA. Este sustrato es posteriormente oxidado por la misma enzima para dar lugar a la formación de NO y L-citrulina^{11,12}.

La participación del NO en la biología neoplásica es extremadamente compleja pero, en general, el NO en concentraciones altas es capaz de tener efectos citotóxicos y tumoricidas¹³⁻¹⁶. A pesar de que las vías de señalización por las cuales se obtienen efectos antitumorales aún no se conocen del todo, se han descrito ciertos mecanismos en los que participa el NO, por ejemplo: secuestrando hierro a nivel mitocondrial¹⁷, inhibiendo la ribonucleótido reductasa^{18,19} e inhibiendo la agregación plaquetaria²⁰⁻²³, entre otros.

Los mecanismos anteriormente expuestos permiten considerar al NO como un potencial mediador del desarrollo y la progresión tumoral, así como modificar la eficacia del tratamiento antineoplásico. De manera que la ventana de oportunidad terapéutica propuesta en este trabajo, consistió en el incrementar la concentración plasmática de NO. Esto puede favorecerse mediante el aumento en la síntesis de NO, vía que tiene como sustrato precursor a la L-arginina.

Por tanto, el objetivo de este trabajo consistió en evaluar el efecto de la suplementación con L-arginina vía oral sobre la respuesta al tratamiento antineoplásico con quimioterapia neoadyuvante (régimen FAC) en pacientes con cáncer de mama.

Materiales y métodos

Se llevó a cabo un ensayo clínico de asignación aleatoria, ciego, longitudinal y prospectivo con controles pasivos (grupo placebo), reclutando mediante un muestreo de casos consecutivos. Los criterios de inclusión fueron: pacientes de sexo femenino que fueron atendidas en la Unidad de Tumores Mamarios del Servicio de Oncología del Hospital General de México y tuvieron un diagnóstico de cáncer de mama localmente avanzado; tratamiento con quimioterapia neoadyuvante (régimen con 5-fluorouracilo, adriamicina y ciclofosfamida) y firma del consentimiento informado. No se incluyeron pacientes con cáncer bilateral ni aquellas que hubiesen recibido tratamiento oncológico previamente. Se excluyeron muestras sanguíneas con hemólisis o insuficientes para el análisis y se eliminaron aquellas pacientes que no permitieron la toma de muestras subsecuentes o que se negaron a consumir el suplemento una vez iniciado el tratamiento.

Las pacientes que ingresaron al protocolo de estudio fueron asignadas aleatoriamente al tratamiento (suplemento/placebo). La suplementación consistió en 30 g de L-arginina vía oral (cantidad determinada con base en estudios previos)^{24,25} que fue administrada el mismo día de aplicación de cada uno de los cuatro ciclos de quimioterapia (1 aplicación cada 21 días). A todas las pacientes se les extrajo una muestra inicial (antes de recibir cualquier tratamiento) de sangre de 10 ml en tubos heparinizados, basándose en la técnica de extracción sanguínea²⁶. Se extrajo el plasma de dichas muestras y se utilizó para determinar la concentración basal de nitritos plasmáticos mediante la reacción de Griess²⁷. Posteriormente, se realizaron las mismas técnicas en las muestras obtenidas tras la administración del suplemento/placebo: esta se recolectó después de la ingestión del suplemento y antes de la aplicación de la quimioterapia. Este procedimiento se realizó una sola vez, puesto que se asumen los mismos cambios agudos al administrarse el mismo tratamiento en cada ciclo.

La respuesta al tratamiento antineoplásico fue evaluada clínicamente por el personal médico a cargo de cada paciente mediante la medición del tamaño tumoral en cada consulta, se calculó la proporción de reducción de la neoplasia al comparar el tamaño inicial contra el final.

Las concentraciones plasmáticas de nitritos fueron analizadas mediante pruebas *t*-student (para datos pareados y para muestras independientes) a fin de evaluar los cambios a lo largo del tratamiento, así como comparar al grupo suplementado con L-arginina contra el grupo control, respectivamente. El tipo de respuesta al tratamiento

antineoplásico (completa: ausencia clínica de tumoración; parcial: reducción $\geq 50\%$ del tamaño tumoral; mínima o nula: reducción menor al 50% del tamaño del tumor) se evaluó mediante el conteo de frecuencias a fin de obtener la proporción de pacientes para cada uno de ellos. Finalmente, se analizó la posible asociación en la respuesta al tratamiento antineoplásico y la suplementación mediante una prueba χ^2 (chi-cuadrada).

Resultados

Se evaluaron 45 pacientes del sexo femenino, las cuales fueron asignadas al tratamiento de acuerdo a una tabla de números aleatorios, obteniéndose al final la siguiente distribución: 20 (44,44%) recibieron como tratamiento un placebo y 25 (55,56%) recibieron el suplemento con L-arginina. Las pacientes tuvieron una media de edad de 48,31 años (DE = 8,54), donde el mínimo fue de 31 y el máximo de 67 años. De acuerdo a la extensión de la neoplasia, la totalidad del cáncer fue clasificado como *localmente avanzado*, es decir, en estadio clínico III.

La respuesta a la quimioterapia neoadyuvante se analizó como una variable cualitativa, integrando así dos grupos: pacientes con respuesta parcial/completa (cuando la reducción en el tamaño tumoral fue mayor al 50%) y pacientes con respuesta mínima/nula (si dicha reducción fue menor).

Como se muestra en la [figura 1](#), en general (sin importar si recibieron suplemento/placebo), 21 pacientes (46,66%) tuvieron una respuesta adecuada al tratamiento neoadyuvante; de manera complementaria, las 24 (53,33%), pacientes restantes no presentaron respuesta. Estos resultados no corresponden a lo reportado en la literatura nacional e internacional, donde se asevera que aproximadamente el 70% de las pacientes que se someten a la quimioterapia neoadyuvante existe una respuesta adecuada. Al dividir la muestra por grupos se obtuvieron los siguientes resultados: 11/20 (55%) de las pacientes que recibieron placebo y 10/25 (40%) del grupo suplemento tuvieron una respuesta adecuada; dichos resultados son similares a los encontrados en la muestra total. La prueba χ^2 para determinar si existía una asociación significativa entre una respuesta adecuada al tratamiento antineoplásico y la suplementación con L-arginina no fue significativa ($p=0,316$).

En segunda instancia ([fig. 2](#)), se realizaron las mismas pruebas únicamente con las pacientes que presentaron una respuesta adecuada: se clasificó como respuesta completa a aquellas pacientes con ausencia clínica de tumoración después de someterse al tratamiento antineoplásico; por su parte, aquellas pacientes con una reducción mayor al 50% en el tamaño tumoral pero aún con evidencia clínica del mismo

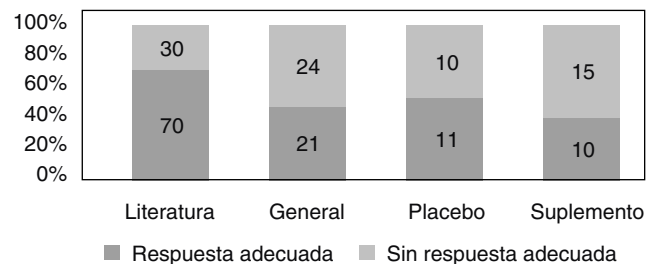


Figura 1 Frecuencias de respuesta al tratamiento antineoplásico.

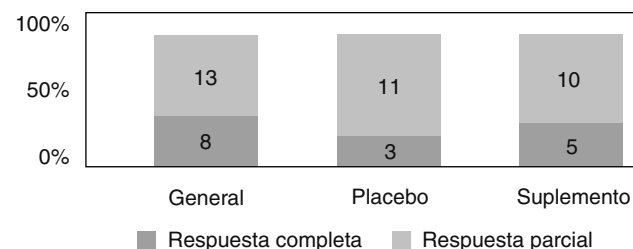


Figura 2 Frecuencias por respuesta adecuada.

Tabla 1 Concentraciones plasmáticas de nitritos pre y pos suplementación

	n	Concentración plasmática de nitritos basal (μm) \pm DE	Concentración plasmática de nitritos después de tratamiento (μm) \pm DE	p
Grupo suplemento	25	7,76 \pm 6,16	14,03 \pm 16,30	0,027
Grupo placebo	20	9,32 \pm 8,65	12,48 \pm 12,99	0,154

Tabla 2 Análisis de muestras independientes

	Placebo	Suplemento	p
Concentración plasmática de nitritos basal (μm) \pm DE	9,32 \pm 8,65	8,09 \pm 6,29	0,598
Concentración plasmática de nitritos después de tratamiento (μm) \pm DE	12,5 \pm 11,7	14,0 \pm 16,3	0,720

fueron clasificadas como respuesta parcial. De esta manera, puede observarse que 8 (38,09%) del total de pacientes participantes tuvieron una respuesta completa y, de manera complementaria, 13 (61,90%) tuvieron una respuesta parcial. Al dividirlos por grupos: 3/11 (27,27%) de los placebos tuvieron respuesta completa y 5/10 (50%) de los suplementos tuvieron una respuesta completa. Se realizó una prueba exacta de Fisher que resultó no asociar de manera estadísticamente significativa ($p=0,386$) la suplementación y una respuesta superior.

Con el objetivo de analizar el efecto de la suplementación con L-arginina en plasma, se determinó la concentración basal de nitritos para ser comparada contra la concentración obtenida después de que la paciente tomó el suplemento o placebo, mediante una prueba t con una confiabilidad del 95% para una sola cola. Este análisis se realizó para cada grupo (suplemento y placebo, contra sí mismos: antes y después). Los resultados se presentan en la [tabla 1](#). Como puede observarse, para el grupo que tomó el suplemento con L-arginina, se encontró una diferencia estadísticamente significativa; por el contrario, para el grupo que recibió el placebo (se elevan de manera significativa en ambos grupos); por el contrario, para el grupo que recibió el placebo, no existe una diferencia significativa a pesar de que hubo un aumento en la media.

Finalmente, se llevaron a cabo pruebas t para muestras independientes –con una confianza del 95%– para determinar el efecto de la suplementación de L-arginina sobre la concentración plasmática de: el grupo suplementado debió elevar en mayor medida su concentración de nitritos. Los resultados se muestran en la [tabla 2](#). No se encontraron diferencias significativas entre los grupos antes de tomar el suplemento/placebo, lo cual es esperado ya que la muestra es aleatoria. Tampoco existen diferencias entre grupos después de tomar el suplemento/placebo; se esperaría que sí existieran pues la L-arginina debería elevar más la actividad de NOS y, como consecuencia, los nitritos.

Discusión

Como ya se mencionó, para el cáncer de mama localmente avanzado se indica un tratamiento con quimioterapia neoadyuvante²⁸⁻³⁰, para el cual la literatura menciona un porcentaje de respuesta completa del 10-30% y parcial de

50-60%, sumando una respuesta adecuada en general de entre 60-80%^{31,32}. Sin embargo, en el presente estudio se encontró un porcentaje de respuesta mucho menor (46%). Con el objetivo de explicar estas diferencias, es posible señalar diversos aspectos:

El cáncer de mama tiene un comportamiento diferente de acuerdo a las características de cada paciente³³; por lo que antes de iniciar cualquier tratamiento se debe realizar una biopsia con el objetivo de confirmar el diagnóstico de cáncer invasivo, así como obtener marcadores predictivos de la respuesta: el subtipo histológico, el grado de diferenciación y la presencia de receptores hormonales, entre otros³⁴. Es por lo anterior que no existe un consenso que establezca cuál es el régimen neoadyuvante más eficaz. Sin embargo, en México –desde el año 2007– el Fondo de Protección Contra Gastos Catastróficos aprobó la cobertura del tratamiento de las pacientes con cáncer de mama a través del Seguro Popular, para lo cual se “estandarizaron” los criterios de atención para la neoplasia mamaria: dentro de este protocolo se estableció un esquema de quimioterapia específico (4 ciclos de 5-fluorouracilo, adriamicina y ciclofosfamida)³⁵. Sin embargo, a pesar de que la paciente se ve beneficiada en el aspecto económico, este régimen quimioterapéutico puede no ser el mejor para su caso particular. Debido a que se administra el mismo régimen a todo cáncer de mama localmente avanzado y no un tratamiento individualizado y adecuado a la paciente y al tumor, la proporción de pacientes con una respuesta adecuada (parcial o completa) disminuye. Esto se evidencia puesto el régimen FAC ha mostrado tener tasas de respuesta similares a las reportadas en la literatura internacional cuando es aplicado a la población adecuada, es decir, cuando hay un tratamiento individualizado a la paciente^{36,37}.

Sin embargo, existen ocasiones en las que a pesar de que se estadiafrique clínicamente a la paciente, se determine el grado y los receptores de la neoplasia y –con ello– se administre el tratamiento adecuado, el tumor puede no responder al tratamiento administrado; este fenómeno se conoce como *resistencia*³⁸. El término “resistencia” se refiere a la capacidad de las células cancerosas de escapar de los mecanismos citotóxicos infringidos por los fármacos del tratamiento oncológico. El NO ha sido estudiado como un agente terapéutico novedoso capaz de modular la resistencia del tumor, por ejemplo, al disminuir la hipoxia que comúnmente induce resistencia de las células cancerosas.

En un estudio en el que se utilizó una línea celular de carcinoma mamario humano pre-expuesta a oxígeno, se aplicaron inhibidores de la NOS, seguidos de fármacos quimioterapéuticos y se encontró que dicha inhibición enzimática favoreció la quimiorresistencia³⁹. De manera complementaria, en otro estudio se administró L-arginina a una línea de células humanas de cáncer de mama previo al tratamiento con doxorubicina; dicho estudio encontró una diferencia significativa en la supervivencia celular en el grupo con L-arginina^{40,41}. Otros estudios similares han encontrado una mejoría en la eficacia de la acción de otros agentes como las antraciclinas y los compuestos de platino⁴². Estas aseveraciones se resumen en un efecto neto: el aumento en la concentración de óxido nítrico mejora la respuesta a la quimioterapia.

A pesar de que este último aspecto se logró (al encontrarse un incremento significativo en la concentración de nitritos en el grupo suplementado con L-arginina), es posible que no se hayan encontrado los efectos citotóxicos mencionados en párrafos anteriores (puesto que no incrementó la proporción de pacientes con respuesta adecuada, ni el suplemento se correlacionó a ella) ya que es probable que el NO no llegara a la neoplasia. El NO tiene una vida media extremadamente corta, por lo que su síntesis debe de promoverse en el tumor, por las propias células cancerosas, ya que éstas han mostrado tener una sobreexpresión de iNOS⁴³.

Finalmente, es importante mencionar que el suplemento utilizado en este estudio resultó difícil de consumir para las pacientes, puesto que la L-arginina es extremadamente amarga. En estudios previos que manejan dosis menores (10 g) con un mayor número de suplementaciones (3 días) se ha reportado una falta de apego al tratamiento con L-arginina⁴⁴, por lo que en este estudio se decidió una suplementación "aguda": misma dosis pero con una única ingestión. A pesar de que el apego fue total (ya que se supervisaba cuando la paciente ingería el suplemento), las pacientes se mostraban no muy dispuestas a las tomas de suplemento debido al sabor. De manera adicional, las dosis menores no resultan suficientes para aumentar de manera significativa la síntesis de óxido nítrico y, con ello, no se sintetiza suficiente intermediario inhibidor de la vía de la urea y poliaminas; este efecto favorecería el proceso carcinogénico.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Lara F, Arce C, Alvarado A, Pérez V, Castañeda N, Ramírez MT, et al. Cáncer de mama. En: Herrera A, Granados M. Manual de oncología: procedimientos médico quirúrgicos. 2ª ed. México: McGraw-Hill; 2003.
- Secretaría de Salud. Programa de acción; cáncer de mama 2007-2012. México: SSA; 2007.
- Gemignani ML. Breast cancer. En: Barakat RR, Bevers MW, Gershenson DM, Hoskins WJ. Handbook of gynecologic oncology. Londres: Martin Dunitz Ltd; 2000.
- National Cancer Institute. Breast cancer treatment. [En línea] 2008 Ago 01 [consultado 2008 Ago 15]; Disponible en: <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/breast>.
- Shenker T, Weir L, Levine M, Olivetto I, Whelan T, Reyno L. Clinical practice guidelines for the care and treatment of breast cancer: treatment for women with stage III or locally advanced breast cancer. CMAJ. 2004;170:983-94.
- Evans TRJ. Neoadjuvant systemic therapy. En: Rayter Z, Mansi J, editores. Medical therapy for breast cancer. Nueva York: Cambridge University Press; 2003.
- Jones NE, Heyland DK. Pharmacconutrition: a new emerging paradigm. Curr Opin Gastroenterol. 2008;24:215-22.
- Santora R, Kozar RA. Molecular mechanisms of pharmacconutrients. J Surg Res 2009; versión impresa aún no disponible.
- Dupertuis YM, Mequid MM, Pichard C. Advancing from immunonutrition to a pharmacconutrition: a gigantic challenge. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2009;12:398-403.
- Chan DL. The role of nutrients in modulating disease. J Small Anim Pract. 2008;49:266-71.
- Morris SM. Enzymes of arginine metabolism. J Nutr. 2004;134:2743S-7S.
- Stuehr DJ. Enzymes of the L-arginine to nitric oxide pathway. J Nutr. 2004;134:2748S-51S.
- Lala PK, Chakraborty C. Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression. Lancet Oncol. 2001;2:149-56.
- Lind DS. Arginine and cancer. J Nutr. 2004;134:2837S-41S.
- Hofseth LJ, Hussain SP, Wogan GN, Harris CC. Nitric oxide in cancer and chemoprevention. Free Radical Biol Med. 2003;34:955-68.
- Buga GM, Ignarro LJ. Nitric oxide and cancer. En: Ignarro RJ. Nitric oxide: biology and pathobiology. EUA: Academic Press; 2000. p.895-919.
- Pervin S, Singh R, Chaudhuri G. Nitric oxide, N^ω-hydroxy-L-arginine and breast cancer. Nitric Oxide. 2008;19:103-6.
- Kwon NS, Stuehr DJ, Nathan CF. Inhibition of tumor cell ribonucleotide reductase by macrophage-activated nitric oxide. J Exp Med. 1991;174:761-7.
- Roy B, Lepoivre M, Henry Y, Fontecave M. Inhibition of ribonucleotide reductase by nitric oxide derived from thionitrites. Biochem. 1995;34:5411-8.
- Gornik HL, Creager MA. Arginine and endothelial and vascular health. J Nutr. 2004;134:2880S-7S.
- Fukumura D, Kashiwagi S, Jain RK. The role of nitric oxide in tumour progression. Nat Rev Cancer. 2006;6:521-34.
- Ng QS, Goh V, Milner J, Stratford MR, Folkes LK, Tozer GM, et al. Effect of nitric oxide synthesis on tumour blood volume and vascular activity: a phase I study. Lancet Oncol. 2007;8:111-8.
- Jurasz P, Alonso-Escolano D, Radomski MW. Platelet cancer interactions: mechanisms and pharmacology of tumor cell-induced platelet aggregation. Br J Pharmacol. 2004;143:819-26.
- Brittenden J, Park KG, Heys SD, Ross C, Ashby J, Ah-See A, et al. L-arginine stimulates host defenses in patients with breast cancer. Surgery. 1994;115:205-12.
- Brittenden J, Heys SD, Ross J, Park KG, Eremin O. Natural cytotoxicity in breast cancer patients receiving neoadjuvant chemotherapy: effects of L-arginine supplementation. Eur J Surg Oncol. 1994;20:464-72.
- Gomella LG. Clinician's pocket reference. 9th ed. Blacklick (OH), EUA: McGraw-Hill; 2001.
- Titheradge MA. The enzymatic measurement of nitrate and nitrite. En: Methods in molecular biology. Vol. 100: nitric oxide protocols. EUA: Humana Press; 1998.
- Greene FL, Page DL, Fleming ID, editores. AJCC Cancer staging manual. 6ª ed. EUA: Springer-Verlag; 2002.
- Smith IE. Neoadjuvant/presurgical treatments. Breast Cancer Res. 2008;10 suppl 4:S24-6.
- Cameron D. Clinical outcomes: to be a surrogate or not to be. ...? Breast Cancer Res. 2007;9 Suppl 2:S26-8.

31. Rustogi A, Budrukkar A, Dinshaw K, Jalali R. Management of locally advanced breast cancer: evolution and current practice. *J Cancer Res Ther.* 2005;1:21–30.
32. Buzdar AU. Preoperative chemotherapy treatment of breast cancer: a review. *Cancer.* 2007;110:2394–407.
33. Conte PF, Guarneri V. Targeting the right chemotherapy for the right patient. *Breast Cancer Res.* 2005;7 Suppl1:S27–30.
34. Untch M, von Minckwitz G. Advances in neoadjuvant (primary) systemic therapy with cytotoxic agents. *Breast Cancer Res.* 2009;11:20209.
35. Mohar A, Bargalló E, Ramírez MT, Lara F, Beltrán-Ortega A. Recursos disponibles para el tratamiento del cáncer de mama en México. *Sal Pub Mex.* 2009;51 Suppl2:S263–9.
36. Heller W, Mazhar D, Ward R, Sinnet HD, Lowdell C, Phillips R, et al. Neoadjuvant 5-fluorouracil, epirubicin and cyclophosphamide chemotherapy followed by docetaxel in refractory patients with locally advanced breast cancer. *Oncol Rep.* 2007;17:253–9.
37. Faneyte IF, Schrama JG, Peterse JL, Remijnse PL, Rodenhuis S, van de Vijver MJ. Breast cancer response to neoadjuvant chemotherapy: predictive markers and relation with outcome. *Br J Cancer.* 2003;88:406–12.
38. González-Angulo AM, Morales-Vázquez F, Hortobagyi GN. Overview of the resistance to systemic therapy in patients with breast cancer. *Adv Exp Med Biol.* 2007;608:1–22.
39. Matthews NE, Adams MA, Maxwell LR, Gofton TE, Graham CH. Nitric oxide-mediated regulation of chemosensitivity in cancer cells. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93:1879–85.
40. Evig CB, Chu Y, Buettner GR, Burns CP. Endogenous production and exogenous exposure to nitric oxide augment doxorubicin cytotoxicity for breast cancer cells but not cardiac myoblasts. *Nitric Oxide.* 2004;10:119–29.
41. Muir CP, Adams MA, Graham CH. Nitric oxide attenuates resistance to doxorubicin in three-dimensional aggregates of human breast carcinoma cells. *Breast Cancer Res Treat.* 2006;96:169–76.
42. Hirst D, Robson T. Nitric oxide in cancer therapeutics: interaction with cytotoxic chemotherapy. *Curr Pharm Des.* 2010;16:411–20.
43. Jeannin JF, Leon L, Cortier M, Sassi N, Paul C, Bettaieb A. Nitric oxide-induced resistance or sensitization to death in tumor cells. *Nitric Oxide.* 2008;19:158–63.
44. Grimble GK. Adverse gastrointestinal effects of arginine and related amino acids. *J Nutr.* 2007;137:1693S–701S.