

DESCRIPCIÓN DEL ESTADO DE RECEPTORES DE ESTRÓGENO Y PROGESTERONA Y LA SOBRE-EXPRESIÓN DE ONCOPROTEÍNA C-ERBB-2 EN UNA SERIE DE 29 CASOS DE CARCINOMA DUCTAL INVASOR DE GLÁNDULA MAMARIA.

DESCRIPTION OF THE ESTROGEN AND PROGESTERONE RECEPTORS, AND THE OVER-EXPRESSION OF ONCOPROTEIN C-ERBB-2 STATUS, IN A SERIES OF 29 CASES OF INVASIVE DUCTAL CARCINOMA OF THE MAMMARY GLAND.

Alvarado Anchisi, Rolando*

*Médico especialista en anatomía patológica, Servicio de Patología, Departamento de Patología y Laboratorio Clínico, Hospital Regional de David "Doctor Rafael Hernández Loeches", Región de Chiriquí, Caja de Seguro Social. República de Panamá.

e-mail: ralvaradoanchisi@hotmail.com

Recibido: 22 de julio de 2010

Aceptado: 26 de octubre de 2011

Alvarado R. Descripción del estado de receptores de estrógeno y progesterona y la sobre-expresión de oncoproteína C-erbB-2 en una serie de 29 casos de carcinoma ductal invasor de glándula mamaria. Rev méd cient. 2010;23(1):12-18.

RESUMEN

El carcinoma ductal invasor de glándula mamaria es una entidad heterogénea, de difícil pronóstico de sobrevida global y libre de enfermedad, debido al limitado valor de los factores pronósticos histológicos. Para esta enfermedad también existen factores que predicen la respuesta al tratamiento, como son el estado de los receptores hormonales, de estrógeno y progesterona, y la sobre-expresión de oncoproteína c-erbB-2 algunos de los cuales también constituyen factores pronósticos.

Para este estudio se emplearon anticuerpos monoclonales para la determinación de receptores de estrógeno, receptores de progesterona, y oncoproteína c-erbB-2 en 29 casos referidos al Laboratorio de Patología del Hospital Chiriquí, procedentes de mujeres residentes en la provincia de Chiriquí, las cuales fueron biopsiadas del 2007 al 2009. El estudio encontró que 55,17 % corresponden a tumores tipo luminal, 37,93 % corresponden a tumores triple negativos, y 6,90 % corresponden a tumores tipo Her2.

Subestimar la importancia de estos estudios por parte de las autoridades merma la posibilidad de una terapia adecuada al pronóstico real de las pacientes con cáncer de mama.

Palabras clave: Salud de la mujer, salud del adulto, enfermedades no transmisibles, técnicas de diagnóstico, biología molecular.

ABSTRACT

Invasive ductal carcinoma of the breast is a heterogeneous entity with difficult prognosis of global survival and disease-free survival, due to the limited value of histological prognostic factors. For this disease, there are also predictive factors to therapy, such as the hormonal receptor status, of estrogen and progesterone, and the over-expression of the c-erbB-2 oncoprotein, some of which are also prognostic factors.

For this study, monoclonal antibodies were used to determine estrogen receptors, progesterone receptors, and oncoprotein c-erbB-2 in 29 cases referred to the Pathology Laboratory of the Hospital Chiriqui, belonging to resident women of the province of Chiriqui, biopsied from 2007 to 2009. This study found 55,17 % of the cases were luminal-type tumors, 37,93 % were triple negatives, and 6,90 % were Her2-type.

Underestimating the importance of these studies by management reduces the possibility of the right therapy according to the real prognosis of patients with breast cancer.

Key words: Women's health, adults health, non-communicable diseases, diagnostic techniques, molecular biology.

Descripción del estado de receptores de estrógeno y progesterona y la sobre-expresión de oncoproteína C-ERB-2 en una serie de 29 casos de carcinoma ductal invasor de glándula mamaria by Rolando Alvarado Anchisi is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/).

Permissions beyond the scope of this license may be available at www.revistamedicocientifica.org.



INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea, que abarca tumores con diferentes comportamientos biológicos, cuya clasificación histológica no logra, por sí sola, pronosticar el curso clínico de la enfermedad.^(1,2) No obstante, en el carcinoma de glándula mamaria se han logrado determinar múltiples factores que, en conjunto, ayudan a determinar el resultado individual final de cada paciente y que además se pueden emplear para refinar las opciones terapéuticas.^(1,3) Los más importantes son: el tipo histológico, grado histológico de Nottingham, tamaño tumoral, estado de los ganglios linfáticos regionales e invasión venosa y linfática.^(1-2,4,5)

El estado de los receptores de estrógeno (ER), receptores de progesterona (PR) y la sobre-expresión de la oncoproteína c-erbB-2 (Her2 *neu*) son factores pronósticos de la enfermedad y predictivos de respuesta al tratamiento hormonal y con trastuzumab, respectivamente.⁽¹⁻⁵⁾

La inmunohistoquímica es una técnica desarrollada hace aproximadamente 30 años y, actualmente, es la piedra angular de la clasificación molecular del carcinoma ductal invasor de glándula mamaria, una práctica de rutina en laboratorios de patología en todo el mundo.^(2,6,7)

Por determinación inmunohistoquímica y genética, los carcinomas ductales invasores de glándula mamaria en mujeres se pueden clasificar en cuatro grandes sub-grupos: los tumores luminales A, los tumores luminales B, los tumores Her2 y los tumores triple negativos (ver figura 1).^(2,8-10)

Los tumores luminales expresan ER y PR. Entre estos, los luminales A no sobre-expresan la Her2 *neu* y los luminales B sobre-expresan Her2 *neu*.^(2,8-10) Los tumores luminales, además, expresan citoqueratinas 8 y 18, propias del estrato luminal del epitelio ductal mamario.⁽²⁾

Los tumores Her2 no expresan ER o PR, pero sobre-expresan la oncoproteína Her2 *neu*. Los tumores

triple negativos no expresan ER, PR o Her2 *neu* (ver Figura 2).^(2,8-10)

Por su parte, los tumores triple negativos se pueden sub-dividir en tumores tipo-basales (o basaloides) y tipo-glándula mamaria normal, que a su vez pueden clasificarse según aparición esporádica o asociados a mutaciones en el gen BRCA1.^(8,11,12)

Los tumores tipo basal poseen, además del perfil triple negativo ER/PR/Her2 *neu*, expresión de citoqueratinas 5/6 y 17, propio del estrato basal del epitelio ductal y expresión del receptor de factor de crecimiento epitelial (EGFR).^(11,13) Este sub-grupo representa 85 % de todos los tumores triple negativos.^(12,14)

La importancia de esta inmunotipificación yace en que los tumores tipo luminales responden muy bien al tratamiento, mientras que los tumores tipo basal y tipo Her2 presentan peor pronóstico.⁽¹²⁻¹⁶⁾

El fenotipo también influye sobre la morfología. Los tumores triple negativos se asocian a mayor grado histológico, tumores de mayor tamaño y tumores expansivos.^(15,17,18,19,20) Los tumores negativos por ER, independientemente de otros marcadores, también poseen características morfológicas de importancia, como áreas de necrosis tipo comedo, extensas áreas de fibrosis en el centro del tumor, presencia de células gigantes y bizarras, y áreas de diferenciación escamosa o fusiforme, elevado grado nuclear, mayor conteo de mitosis y formación de sincicios de células tumorales (ver Figura 3).^(16,21-23)

Aunque el estado de receptores hormonales se asigna con la expresión de ER, PR o ambos, hay estudios recientes que asocian diferentes significados clínicos y terapéuticos a fenotipos específicos. El beneficio de la terapia hormonal es directamente proporcional a la expresión de ER, mientras que PR ha demostrado ser un factor pronóstico de sobrevida global y libre de enfermedad, pero no predictivo de respuesta a tratamiento.^(23,24) Además, los tumores que no expresan ER pero expresan PR se han reconocido como una entidad biológica real que afecta a

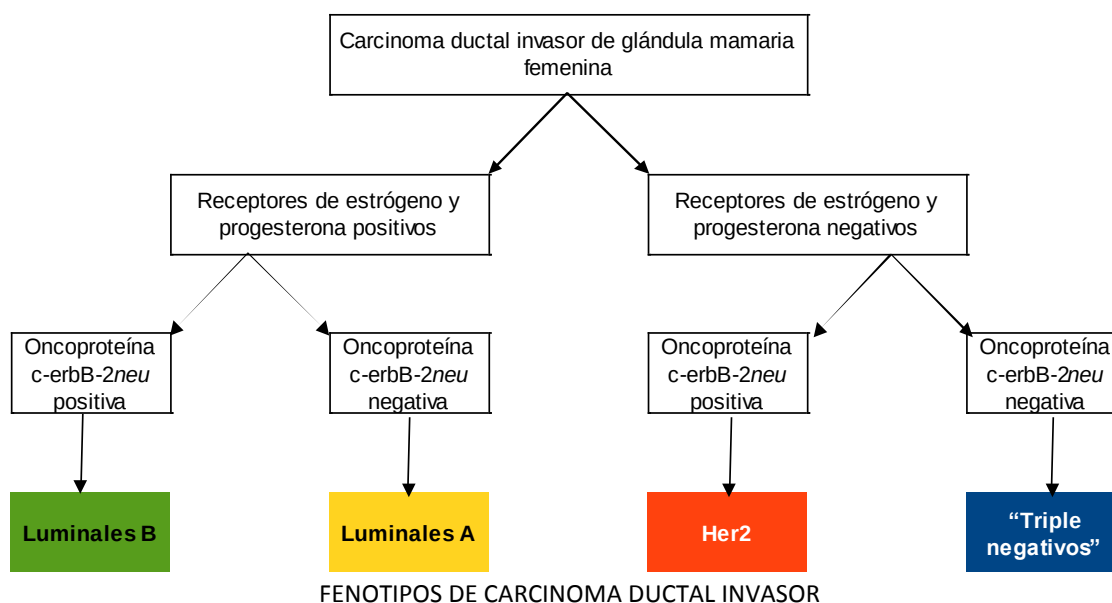


Figura 1. Clasificación de carcinoma ductal invasor de glándula mamaria según fenotipo de expresión de receptores de estrógeno, receptores de progesterona y oncoproteína c-erbB-2.

mujeres más jóvenes y se presenta con tumores de mayor tamaño, en comparación con tumores que expresan ER y PR.^(22,25)

Un estudio reciente por Wei *et al*, demuestra que tumores que expresan ER, mas no PR, tienen mayor riesgo de desarrollar metástasis óseas, mientras que otro estudio, por Bohn *et al* establece mayor riesgo para tumores con sobre-expresión de oncoproteína Her2 *neu*.^(26,27)

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio es descriptivo, de una serie de casos, para el cual se seleccionaron 29 casos referidos al Laboratorio de Patología del Hospital Chiriquí, veintiocho (28) de los cuales eran procedentes del Hospital Regional de David y uno (1) de otro centro médico local, con diagnóstico histológico de carcinoma ductal invasor de glándula mamaria. Doce (12) casos se hicieron de forma retrospectiva y el resto, diecisiete (17), se realizaron de forma prospectiva. El universo del cual parte esta muestra corresponde a las mujeres adultas con diagnóstico histopatológico de carcinoma ductal invasor con preparaciones histológicas disponibles para estudios de inmunohistoquímica.

Información técnica

La determinación de los marcadores tumorales arriba mencionados se realizó de forma semi-cuantitativa *in vitro* en secciones histológicas de parafina cortadas a 4 µm de espesor, dejándolas reposar durante 24 horas a 60 °C y luego desparafinándolos hasta llevar a agua destilada. La recuperación antigénica se realizó mediante inducción de calor por baño de agua, entre 95 y 99 °C, durante 20 a 30 minutos para ER y PR, mientras que durante 40 minutos para Her2 *neu* en una solución de citrato de sodio.

En todas las preparaciones se realizó bloqueo de peroxidasa tisulares con peróxido de hidrógeno al 3 %, seguido de incubación de anticuerpo anti-humano primario.

En la estadiación de receptores hormonales se emplearon anticuerpo monoclonal anti-humano de ratón para receptor alfa de estrógeno (Clona 1D5, DAKO), en dilución de 1:35, y anticuerpo monoclonal anti-humano de ratón para receptor de progesterona (Clona PgR636, DAKO), en dilución de 1:50, luego se incubó con inmunoglobulinas anti conejo, anti-ratón y anti-cabra conjugados con biotina, y finalmente estreptavidina conjugada con

Descripción del estado de receptores de estrógeno y progesterona y la sobre-expresión de oncoproteína C-ERB-2 en una serie de 29 casos de carcinoma ductal invasor de glándula mamaria

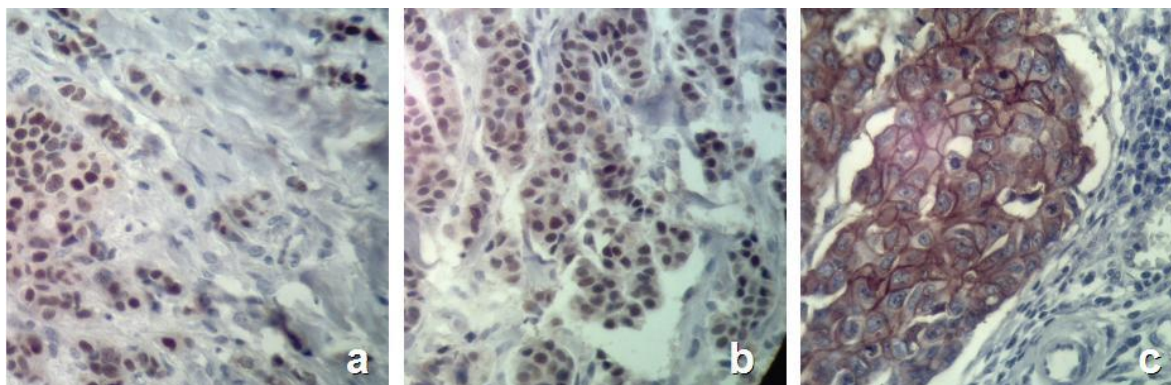


Figura 2. Expresión de Marcadores Tumorales. a) Expresión de receptor α de estrógeno en un carcinoma ductal invasor (Micrografía 400x, tinción positiva nuclear en color marrón). b) Expresión de receptor de progesterona en un carcinoma ductal invasor (Micrografía 400x, tinción positiva nuclear en color marrón). c) Sobre-expresión de oncoproteína c-erbB-2 en un carcinoma ductal invasor (Micrografía 400x, tinción positiva intensa y completa de la membrana citoplasmática en color marrón). (Fuente: Rolando Anchisi)

peroxidasa de rábano.

En la determinación de Her2 *neu* se empleó anticuerpo monoclonal anti-humano de conejo en una preparación lista para usar (HercepTest™), y luego se incubó un polímero dextrano conjugado con peroxidasa de rábano.

Todas las preparaciones se tiñeron con solución cromógena de 3,3'-diaminobenzidina y se contra-tiñeron con hematoxilina de Mayer (según modificaciones de Lillie). Se emplearon, en cada corrida, controles tisulares positivos conocidos para ER y PR, además de controles celulares positivos y negativos conocidos para Her2 *neu*.

La interpretación semi-cuantitativa de los marcadores se hizo empleando la escala de Allred para ER y PR, considerando positividad la tinción nuclear moderada o intensa en 1% o más de las células tumorales. La sobre-expresión de Her2 *neu* se interpretó según escala de HercepTest™, considerando positivos los casos con 10% o más de las células tumorales con tinción completa de membrana citoplasmática, moderada (2+) o intensa (3+).

RESULTADOS

Los casos corresponden a pacientes entre 36 y 69 años de edad, todas residentes en la provincia de Chiriquí, de los cuales 16 casos (55,17%) resultaron positivos y 13 casos (44,83%) resultaron negativos para ER y PR. De los 29 casos, 7 casos (24,14%) sobre-expresaron, mientras 22 casos (75,86%) no sobre-expresaron Her2 *neu*.

De los 29 casos, 5 casos (17,24%) resultaron positivos para ER y PR, así como sobre-expresión de Her2 *neu*; 11 casos (37,93%) resultaron positivos para ER y PR, sin sobre-expresión de Her2 *neu*; 2 casos (6,90%) resultaron negativos para ER y PR, pero con sobre-expresión de Her2 *neu*; y 11 casos (37,93%) resultaron negativos para ER y PR, sin sobre-expresión de Her2 *neu*.

Las pacientes fueron agrupadas por rangos de edad, y su distribución fue la siguiente: 5 pacientes (17,24%) de 36 a 40 años, 3 pacientes (10,34%) de 41 a 45 años, 5 pacientes (17,24%) de 46 a 50 años, 4 pacientes (13,79%) de 51 a 55 años, 2 pacientes (6,90%) de 56 a 60 años, 4 pacientes (13,79%) de 61 a 65 años, 3 pacientes (10,34%) de 66 a 69 años, y 3 pacientes (10,34%) sin edad reseñada.

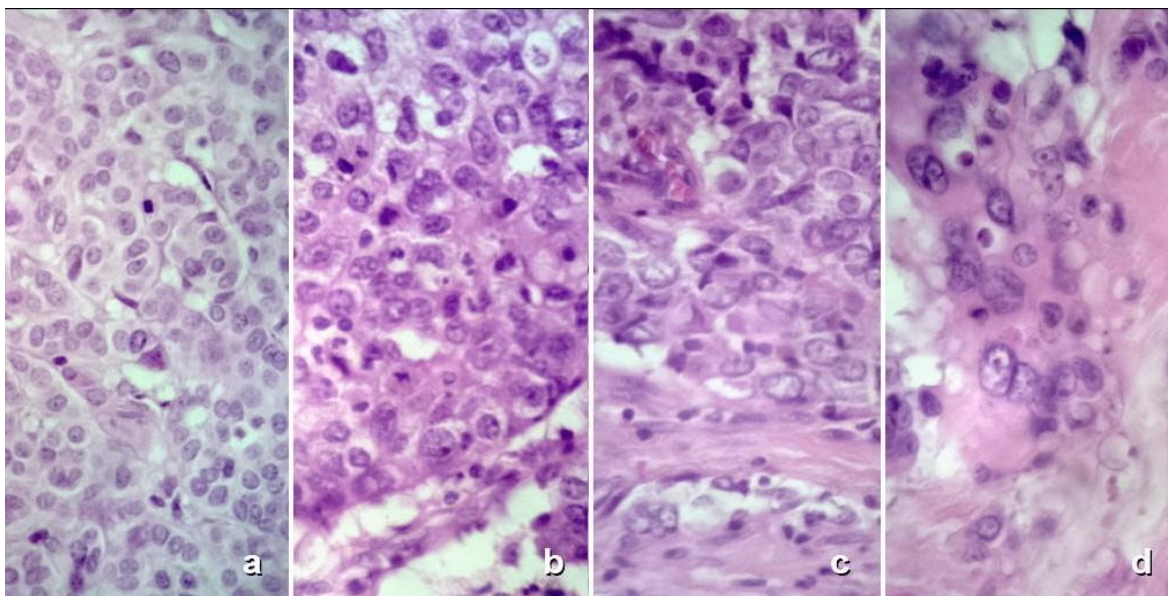


Figura 3. Grado Histológico de Tumores Triple Negativos. a) Carcinoma ductal invasor, grado histológico de Nottingham I. El tumor forma ductos, sin incremento en la actividad mitótica y con núcleos pequeños. b,c) Carcinomas ductales invasores, grado histológico de Nottingham II. Los tumores forman menor cantidad de ductos, sino sábanas o conglomerados celulares, con incremento de las figuras mitóticas e incremento en el tamaño nuclear y presencia de nucleolos prominentes. d) Carcinoma ductal invasor, grado histológico de Nottingham III. El tumor no forma ductos y hay formas celulares bizarras, con conglomerados sincitiales. (Micrografías 400x, tinción de hematoxilina y eosina. Fuente: Rolando Anchisi).

DISCUSIÓN

La literatura consultada sitúa a los tumores tipo luminales en primer lugar, con cifras entre 54,5 y 58%, seguido de los triple negativos, con cifras entre 16,3 y 32%, y situando en último lugar a los tumores tipo Her2, con cifras entre 10 y 16,4%.^(10,17,19,28,29) La serie de casos presentados en este estudio también colocan a los tumores tipo luminales en primer lugar, con 55,17%, seguido de tumores triple negativos, con 37,93%, y finalmente los tumores tipo Her2, con 6,90 %.

La mayor parte de los casos triple negativos estuvo comprendida en los grupos de 46 años o más, con nueve de once casos (81,82%). Por limitaciones en los fondos de investigación, no se pudo determinar cuántos casos triple negativos poseen perfil tipo basal, tipo glándula mamaria normal, y su asociación con mutación del gen BRCA1. Del mismo modo, no se pudo determinar por citogenética e inmunofluorescencia la veracidad de los casos Her2 *neu* 2+. Sin estos recursos no se puede determinar si la cifra de tumores triple negativos constituye un

fenómeno biológico real y no un error estadístico por tratarse de una serie pequeña o por otras variables.

CONCLUSIÓN

Los valores proporcionados por diferentes series dependen de variables técnicas como la fijación de los tejidos, procesamiento histológico, recuperación antigénica e incubación de anticuerpos, y de puntos de corte entre negativo y positivo.

Subestimar la importancia de estos estudios por parte de las autoridades merma la posibilidad de una terapia adecuada al pronóstico real de las pacientes con cáncer de mama.

AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer a todo el personal administrativo, técnico y médico del Servicio de Patología, Departamento de Patología y Laboratorio Clínico, Hospital Regional de David "Doctor Rafael Hernández Loeches", por su cooperación en la captación de casos; a la Licenciada Jain Otero, Bióloga y Asistente de Histotecnología, del

Laboratorio de Patología, Hospital Chiriquí, por su arduo trabajo en preparar el material para las pruebas inmunohistoquímicas; y al Licenciado Juan De Dios Tejada, Representante, Productos Roche (Panamá), S.A., por su constante apoyo en proyectos de investigación en oncología.

REFERENCIAS

1. Anderson WF, Blair A, Brinton LA *et al.* Established breast cancer risk factors by clinically important tumour characteristics. *British Journal of Cancer* 2006; 95(1): 123-129.
2. Anderon K, Mazouni C, Pusztal L *et al.* Molecular classification of breast cancer: limitations and potential. *The Oncologist* 2006; 11: 868-877.
3. Lonning PE Breast cancer prognostication and prediction: are we making progress? *Annals of Oncology* 2007; 18(S8): viii3-viii7.
4. Algrota J, Díaz de Otazu R, Fariña J *et al.* Immunohistochemical prognostic index for breast cancer in young women. *J Clin Pathol: Mol Pathol.* 2003; 56: 323-327.
5. Cianfrocca M, Goldstein LJ Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. *The Oncologist* 2004; 9: 606-616.
6. Kroger N, Lonning T, Milde-Langosch K *et al.* Prognostic and predictive effects of immunohistochemical factors in high-risk primary breast cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2006; 12: 159-168.
7. Coradini D, Daidone MG Biomolecular prognostic factors in breast cancer. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* 2004; 16: 49-55.
8. Aas T, Botstein D, Borresen-Dale AL *et al.* Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 2001; 98: 10869-10874.
9. Ahn SH, Gong G, Kim MJ *et al.* Clinicopathologic significance of the basal-like subtype of breast cancer: a comparison with hormone receptor and Her2/neu-overexpressing phenotypes. *Human Pathology* 2008; 39: 1217-1226.
10. Bevilacqua JLB, Carvalho FM, Fernandes RCM *et al.* Coordinate expression of ER, PR and HER2 define different prognostic subtypes among poorly differentiated breast carcinomas. *Histopathology* 2009; 55: 346-352.
11. Botstein D, Brown P, Dieterich H *et al.* Expression of cytokeratins 17 and 5 identifies a group of breast carcinomas with poor clinical outcome. *Am J Pathol.* 2002; 161: 1991-1996.
12. Reis-Filho JS, Tutt ANJ. Triple negative tumours: a critical review. *Histopathology* 2008; 52: 108-118.
13. Begin L, Brunet JS, Cheang MCU *et al.* Use of immunohistochemical markers can refine prognosis in triple negative breast cancer. *BMC Cancer* [Internet] 2007; 7: 134 (Disponible en: <http://www.biomedcentral.com>)
14. Bauer KR, Brown M, Cress RD *et al.* Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype. *Cancer.* 2007; 109: 1721-1728.
15. Lakhani SR. The morphology of breast tumors in BRCA1/2 carriers. *Pathology Case Reviews* 2003; 8: 240-244.
16. Delgado Y, Feiner H, Inghirami G *et al.* Differential amplification and overexpression of Her-2/neu, p53, MIB1, and Estrogen Receptor/Progesterone Receptor among medullary carcinoma, atypical medullary carcinoma, and high-grade invasive ductal carcinoma of breast. *Arch Pathol Lab Med.* 2003; 127: 1458-1464.
17. Bajdik C, Cheang MCU, Chia SK *et al.* Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative

phenotype. Clin Cancer Res. 2008; 14(5): 1368-1376.

18. El-Sayed ME, Ellis IO, Green AR *et al.* Prognostic markers in triple-negative breast cancer. Cancer. 2007; 109: 25-32.

19. Dent R, Hanna WM, Kahn HK *et al.* Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. Clin Cancer Res. 2007; 13: 4429-4434.

20. Haffty BG, Hait W, Harris L *et al.* Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer. J Clin Oncol. 2006; 24: 5652-5657.

21. El-Rehim DMA, Ellis IO, Lee AHS *et al.* Estrogen receptor-negative breast carcinomas: a review of morphology and immunophenotypical analysis. Modern Pathology 2005; 18: 26-35.

22. Khan A, Khawar H, Kiani J *et al.* Estrogen receptor α -negative and progesteron receptor-positive breast cancer: Lab error or real entity? Pathology Oncology Research 2006; 12: 223-227.

23. Scawn R, Shousha S. Morphologic spectrum of Estrogen Receptor-Negative breast carcinoma. Arch Pathol Lab Med. 2002; 126: 325-330.

24. Crispino S, Rastelli F. Factors predictive of response to hormone therapy in breast cancer. Tumori 2008; 94: 370-383.

25. Allred DC, Berardo M, Clark GM *et al.* Progesterone receptor by immunohistochemistry and clinical outcome in breast cancer: a validation study. Modern Pathology 2004; 17: 1545-1554.

26. Bourne P, Bu H, Hicks D *et al.* Bone metastasis is strongly associated with estrogen receptor-positive/progesterone receptor negative breast carcinomas. Human Pathology 2008; 39: 1809-1815.

27. Bohn OL, Brufsky A, Chivukula M *et al.* Biomarker profile in breast carcinomas presenting with bone metastasis. International Journal of Clinical and Experimental Pathology 2010; 3(2): 139-146.

28. Carey LA, Collichio F, Dees EC *et al.* The triple negative paradox: Primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. Clin Cancer Res. 2007; 13: 2329-2334.

29. Carr JA, Divine G, Havstad S *et al.* The association of HER-2/neu amplification with breast cancer recurrence. Arch Surg. 2000; 135: 1469-1474.