

C-erbB-2 CORRELACIÓN CON PRONÓSTICO Y SOBREVIDA EN EL ADENOCARCINOMA DE COLON

JOSEPMILLY PEÑA, JOSEFA MARÍA BRICEÑO, DAVID PARADA, SHEILA MEDINA, LUCÍA PEZZETTI, ARGIMIRO RODRÍGUEZ

SERVICIO DE VÍAS DIGESTIVAS, HOSPITAL ONCOLÓGICO PADRE MACHADO. CARACAS, VENEZUELA. SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA, HOSPITAL VARGAS DE CARACAS. CARACAS, VENEZUELA

RESUMEN

OBJETIVOS: Ciertos marcadores biológicos pueden aportar información útil para la aplicación de diversas estrategias terapéuticas novedosas dirigidas al control de progresión de la enfermedad y diseminación de células tumorales individuales al determinar si existe correlación entre expresión de c-erbB-2 y el estadio tumoral, tamaño del tumor, profundidad de invasión, grado de diferenciación, estado ganglionar, recurrencia local y a distancia, intervalo libre de enfermedad y supervivencia en pacientes con adenocarcinoma de colon. **MÉTODOS:** Se realiza un estudio retrospectivo donde se incluyeron 28 pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma de colon en estadios I, II y III sometidos a cirugía curativa en el período comprendido entre 1994 y 1998; en el Hospital Oncológico Padre Machado y Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Vargas de Caracas con especímenes quirúrgicos (bloques de parafina) disponibles para estudio histológico e inmunohistoquímico y seguidos en nuestra institución. **RESULTADOS:** La sobreexpresión del c-erbB-2 fue detectada en 8 (28,57 %) de 28 pacientes. Hubo correlación estadísticamente significativa entre el estado ganglionar, el grado de diferenciación tumoral y la sobreexpresión de c-erbB-2: 67 % de los pacientes con sobreexpresión +2 del c-erbB-2 tenían ganglios positivos ($P < 0,034$) y eran poco diferenciados ($P < 0,002$). **CONCLUSIONES:** Los avances en biología molecular en el cáncer de colon y recto sugieren que los cambios moleculares que ocurren en el tumor primario definen el pronóstico para estos pacientes. Los tumores con sobreexpresión c-erbB-2 presentan ganglios positivos y menor grado de diferenciación.

PALABRAS CLAVE: c-erbB-2, cáncer de colon, inmunohistoquímica.

Recibido: 12/06/2006 Revisado: 17/07/2006
Aceptado para Publicación: 17/07/2006

SUMMARY

OBJECTIVES: Some biology markers can be ported utile information to the application of varies new and modern therapeutic strategies unfocused for the control of the dissemination and the progression of the individual tumoral cells to determine if exist any correlation between the c-erbB-2 expression and the tumoral state, size of tumor, the invasion deep, differentiation grade, ganglion state local, and the distance recurrence, disease free interval and super life in patients with colon adenocarcinoma. **METHODS:** It's realized a retrospective study when we included 28 patients with diagnostic of colon adenocarcinoma stage I, II, and III underwent curative surgery in the period between 1994 and 1998; in the Oncology Hospital Padre Machado and in the Pathology service of Hospital Vargas of Caracas, with surgery specimen (paraffin blocks) available to the histological studies and continued observed in our institution. **RESULTS:** The c-erbB-2 super expression were detected in 8 (28.57 %) of 28 patients. There were significant statistic correlation between the ganglion stage, the grade of tumoral differentiation and the super expression of c-erbB-2: 67 % of the patients with super expression +2 of c-erbB-2 has positive ganglion ($P \leq 0.034$) tumoral differentiation and to be poor differentiation ($P \leq 0.002$). **CONCLUSIONS:** The advantages in molecular biology in colon and rectal cancer suggested that the changes to be occurring in the primary tumor define the prognostic of all these patients. The tumors with super expressions of c-erbB-2 presented positive ganglion and minor differentiation grade.

KEY WORDS: c-erbB-2, colon cancer, immunohistochemistry

Correspondencia: Dra. Josepmilly Peña C.
Hospital Oncológico Padre Machado
Caracas, Venezuela.
Teléfono: (0416)6316160
Email: josepmillyp@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

El cáncer es la segunda causa de muerte en Venezuela. En el año 1999 se registró un total de 1 472 muertes sólo por cáncer de colon⁽¹⁾. A pesar de las mejorías en el tratamiento quirúrgico y quimioterapia adyuvante, la mortalidad por cáncer colorrectal permanece elevada y la diseminación metastásica a hígado ocurre en un 50 % de los pacientes⁽²⁾.

Aunque el estado ganglionar es el indicador pronóstico más importante en el cáncer de colon hay creciente evidencia que este sea insuficiente para predecir la evolución clínica de estos pacientes, particularmente los estadios II según la clasificación TNM (T3, T4 N0 M0)⁽³⁾. El conocimiento de los mecanismos moleculares que rigen el potencial invasivo y metastásico tienen por lo tanto implicaciones importantes para el manejo de esta patología. Marcadores biológicos relevantes para el cáncer de colon pueden aportar información útil para la aplicación de diversas estrategias terapéuticas novedosas dirigidas al control de la progresión de la enfermedad y diseminación de las células tumorales⁽⁴⁾.

Los avances en la biología molecular en el cáncer colorrectal sugieren que los cambios moleculares del tumor primario definen el pronóstico para los pacientes individuales. Un largo número de carbohidratos y proteínas moleculares tales como el antígeno carcinoembrionario (ACE), la ciclina D1, el Bcl-2, p53, p21, Ki-67, CD44, la citokeratina 19, la inestabilidad microsatelital, la pérdida de heterocigocidad del cromosoma 18, la amplificación del c-myc y los marcadores de proliferación celular o angiogénesis, son considerados valores pronósticos independientes que todavía no han sido comprobados. La mayoría de estos estudios son retrospectivos

o investigaciones prospectivas pequeñas⁽⁵⁾. Se ha reportado que los pacientes que expresan CD44 y citokeratina 19 tienen una reducción del intervalo libre de enfermedad y peor sobrevida⁽⁵⁾. Según Yamauchi y col.⁽⁶⁾ la expresión de la ciclooxigenasa-2 puede ser usada como marcador en la evaluación del pronóstico y riesgo de desarrollar metástasis hepáticas en el paciente con cáncer colorrectal.

Recientemente la atención se ha dirigido hacia los proto-oncogenes, incluyendo el c-erbB-2 (conocido también como HER-2/neu), que representan una familia de genes celulares normales relacionados con el crecimiento celular y diferenciación. Hay gran evidencia que las alteraciones en la estructura de estos genes o su amplificación o sobre expresión puede jugar un rol fundamental en la patogénesis de muchas neoplasias⁽⁷⁾. El proto-oncogen c-erbB-2 es una glicoproteína transmembrana con actividad tirosin-quinasa y con estructuras homólogas con el receptor de factor de crecimiento epidérmico⁽⁸⁾. La tipificación del c-erbB-2 y la sobre-expresión de la oncoproteína ha sido correlacionada con enfermedad avanzada, mayor actividad mitótica y la presencia de metástasis a distancia.

El porcentaje de tumores colorrectales que sobre-expresan c-erbB-2 es muy variable de acuerdo a las series, con un rango que oscila entre 20 % y 89 % de los casos⁽⁹⁻¹³⁾. La mayoría de estos estudios no han sido consistentes en concluir la correlación entre la expresión del c-erbB-2 y los factores clínico-patológicos⁽¹⁴⁾. Cuatro estudios han reportado asociación entre la sobre-expresión del c-erbB-2 y estadios tumorales más avanzados, disminución de sobrevida o ambos^(7,15-17). Nakae y col.⁽⁹⁾ encontraron que la expresión del c-erbB-2 fue significativamente mayor en tumores clasificados como Dukes D en comparación con los catalogados Dukes A, B o C. D'Emilia y col.⁽¹⁰⁾ obtuvieron resultados opuestos. Ninguno de estos estudios pudo demostrar el rol

independiente del c-erbB-2 en predecir el pronóstico en estos pacientes. En algunas series ⁽¹⁸⁾ está asociado a una peor diferenciación histológica.

Si se confirma en estudios prospectivos y retrospectivos el rol del c-erbB-2 y de otros marcadores biológicos, se pudiera crear un nuevo sistema de estadificación diseñado para facilitar la toma de decisiones clínicas, conocer el pronóstico de los pacientes y diseñar estrategias terapéuticas específicas. Esto es de gran importancia ya que a pesar del conocimiento actual que se tiene sobre esta terrible enfermedad y de los adelantos hechos en los métodos diagnósticos, cirugía y tratamientos adyuvantes, la cifra de muertes no ha descendido significativamente en el último lustro.

MÉTODOS

Estudio retrospectivo realizado en el Hospital Oncológico Padre Machado. Se incluyeron 28 pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma de colon en estadios I, II y III según la clasificación de TNM del 1997⁽³⁾ sometidos a cirugía curativa entre 1994 y 1998, con especímenes quirúrgicos (bloques de parafina) disponibles para estudio histológico e inmunohistoquímico y seguidos en nuestra institución. Se registraron variables como la edad, el sexo, estadio (según la clasificación de TNM del AJCC de 1997), tamaño tumoral (según el diámetro mayor del tumor; en milímetros), el grado de diferenciación tumoral, la expresión de c-erbB-2, el intervalo libre de enfermedad (meses), la recurrencia local y a distancia y el tiempo de sobrevida (meses) en una base de datos (Access para Windows 2000, Microsoft Corp., USA). Se investigó la expresión del c-erbB-2 revisando los bloques de parafina de los tumores primarios y realizando tinción inmunohistoquímica para c-erbB-2. El grado de expresión de este marcador se clasificó como

1+, 2+, ó 3+. Determinamos su rol pronóstico mediante análisis estadístico correlacionando la expresión del c-erbB-2 con el estadio, el tamaño del tumor, profundidad de invasión (T), grado de diferenciación, presencia de ganglios positivos (N), recurrencia local, recurrencia a distancia, intervalo libre de enfermedad y sobrevida. Los criterios de exclusión empleados fueron antecedentes de quimioterapia o radioterapia preoperatoria, la presencia de metástasis a distancia al momento de la cirugía inicial, el diagnóstico histológico diferente a ADC y la cirugía no curativa.

Previo a desparafinar e hidratar los cortes histológicos, se procedió a practicar la recuperación de antígenos utilizando para ello una vaporera marca Black & Decker, colocando las láminas durante 20 min a una temperatura de 95°C en la solución DAKO® (S1700) para dicha recuperación. Posteriormente, se lavaron en tres oportunidades con agua destilada por 5 minutos. Una vez realizados los procedimientos anteriores se continuó con la inhibición de la peroxidasa endógena incubándose el material a temperatura ambiente por 30 minutos en una solución de peróxido de hidrógeno-metanol al 3 %, (Peróxido de hidrógeno al 30 %, Macrosearch®) lavándose inmediatamente tres veces con solución de buffer fosfato a pH 7.2 (PBS) por 5 minutos cada lavado. Una vez realizados los procedimientos anteriores se incubaron cada uno de los casos con el siguiente anticuerpo primario monoclonal HER2-neu (Dako®); dicha incubación se llevó a cabo durante 30 min a temperatura ambiente. Las incubaciones con el anticuerpo secundario universal biotinilado unido al complejo enzimático (DAKO® - EnVision®) fueron realizadas a temperatura ambiente durante 10 minutos en cada caso, posteriormente se hicieron 3 lavados con PBS. Finalmente los cortes de inmunohistoquímica fueron revelados con Diaminobencidina, contrastados con Hematoxilina de Meyer, deshidratados con alcoholes a concentraciones crecientes y aclarados con

xilol, para finalmente ser examinados en un microscopio de luz, con aumentos directos que oscilaron entre 3.5 X y 40 X.

Los resultados fueron procesados con el Programa Estadístico para las Ciencias Sociales (SPSS versión 11.0). En principio se realizó un análisis descriptivo de las distintas variables en estudio para determinar su comportamiento en cada una de las evaluaciones realizadas. Se calculó la media y moda en el caso de las variables continuas; en el caso de las variables nominales, su frecuencia y porcentaje. Posteriormente se realizaron distintas pruebas para estudiar la independencia de la expresión del c-erbB-2 con las demás variables. El nivel de significación α con el que se realizó cada una de estas pruebas es de 0,05. En cada caso se construyó la región crítica correspondiente al nivel de significación α y se obtuvo el estadístico de contraste definido como Chi cuadrado (χ^2). Se calculó la sobrevida según el método de Kaplan-Meier.

RESULTADOS

Un total de 28 pacientes con cáncer de colon fueron evaluados. La edad promedio de los pacientes estudiados fue de 59 años (rango de 30 a 82 años). El seguimiento promedio fue de 55 meses (rango 2 a 119 meses). La muestra está formada por 20 mujeres (71 %) y 8 hombres (29 %). La intervención quirúrgica más frecuente fue la hemicolectomía radical derecha que se realizó en 14 pacientes (50 %) seguida de la colectomía total en 5 pacientes (17,86 %).

Al realizar el estadiaje posquirúrgico de los tumores de colon basados en la clasificación TNM del AJCC de 1997⁽³⁾ se encontraron 18 pacientes estadio II (64,29 %), 6 pacientes estadio I (21,42 %) y 4 pacientes estadio III (14,29 %). La mayoría de los tumores (67,86 %) fueron clasificados histológicamente como T3. En 85,71 % de los pacientes no se encontraron ganglios positivos para metástasis

siendo clasificados como N0; los cuatro pacientes restantes (14,29 %) se clasificaron como N1. No se encontraron pacientes N2 en esta serie.

La expresión del c-erbB-2 en las células neoplásicas fue evaluada mediante técnica de inmunohistoquímica. En 6 pacientes se realizó Herceptest® confirmatorio. Ocho pacientes (28,57 %) tuvieron sobre-expresión del c-erbB-2 en el citoplasma de las células tumorales. No se evidenció expresión en la membrana celular.

Se evaluó la relación entre variables clínico-patológicas de los tumores y la expresión de c-erbB-2. Al analizar el estadio posquirúrgico se evidenció que la mayoría de los tumores que no expresaron c-erbB-2 se clasificaron como estadio II (14 de un total de 20 tumores que equivale al 70 %). Llama la atención que el 67 % de los tumores que expresaron 2+ c-erbB-2 fueron clasificados como estadio III. El único tumor con expresión 3+ de c-erbB-2 fue clasificado como estadio II. Al evaluar la profundidad de invasión en el tumor primario de colon se encontró que todas las neoplasias con expresión acentuada del c-erbB-2 (2+ y 3+) fueron catalogadas como T3. Sin embargo, el 65 % de los tumores que no sobre-expresaron c-erbB-2 se clasificaron como T3.

El factor pronóstico más importante en cáncer colorrectal es el estado ganglionar. Cuatro pacientes (14,29 %) tuvieron de 1 a 3 ganglios positivos para metástasis. En la muestra examinada no se encontraron N2. Cabe destacar que el 67 % de los pacientes con sobre-expresión 2+ de c-erbB-2 en el tumor primario fueron N1 y el 95 % de los pacientes que no sobre-expresaron c-erbB-2 eran N0.

El grado de diferenciación del tumor se relacionó con la expresión de c-erbB-2. Es de hacer notar que la mayoría de los tumores con sobre-expresión 2+ del c-erbB-2 eran poco diferenciados (G III) (67 %) mientras que el 70 % de los tumores que no expresaron c-erbB-2 eran bien diferenciados (G I). Todos los pacientes

con sobre-expresión 1+ fueron moderadamente diferenciados (G II).

En relación al tamaño tumoral, la mitad de los pacientes con sobre-expresión 1+ de c-erbB-2 tuvieron lesiones mayores de 5 cm. Sin embargo, el 66,66 % de los tumores con expresión 2+ tenían tamaños entre 2,1 y 5 cm.

Dos pacientes de toda la muestra examinada tuvieron recurrencia local (7,14 %). Ninguno de estos pacientes tuvo sobre-expresión del c-erbB-2. Cuatro pacientes (14,29 %) recurrieron a distancia. Dos de estos pacientes no sobre-expresaron c-erbB-2; el único paciente que tuvo sobre-expresión 3+ recurrió a distancia. De los 24 pacientes que no recurrieron, 18 (75 %) no expresaron c-erbB-2.

El intervalo libre de enfermedad (ILE) promedio de los pacientes estudiados fue de 49 meses (rango de 2 a 119 meses). El 40 % de los pacientes que no sobre-expresaron el c-erbB-2 tuvieron un ILE prolongado (mayor a 61 meses). Se evaluó además la existencia de segundos primarios en este grupo de pacientes y se relacionó con la expresión de c-erbB-2. Del total de 28 pacientes únicamente 6 desarrollaron otras neoplasias. De los pacientes con tumores que no expresaron c-erbB-2 el 85 % no desarrolló un segundo primario. El 67 % de los pacientes con sobre-expresión 2+ desarrollaron un segundo primario (2 pacientes con cáncer de endometrio).

Al correlacionar todas las variables clínico patológicas y la sobre expresión del c-erbB-2 a través del nivel de significación a demostramos la dependencia entre el grado de diferenciación y la presencia de ganglios positivos con la sobre expresión del c-erbB-2. En otras palabras, los tumores con sobre expresión de c-erbB-2 presentan mayor grado de diferenciación y una alta tendencia a presentar metástasis ganglionares (Cuadro 1). Debido a que las variables que tienen relación entre sí (sobre-expresión de c-erbB-2, presencia de ganglios y grado de diferenciación) son variables

cualitativas pero no son dicotómicas o binomiales no se puede aplicar el modelo de regresión logística.

Cuadro 1. Correlación entre las variables clínico-patológicas y sobre-expresión de c-erbB-2.

Análisis de independencia Variables	P	Grados de libertad	Nivel de significación
Estadio	0,157	6	5 %
T	0,806	6	5 %
N	0,034	3	5 %
Grado de diferenciación	0,002	6	5 %
Tamaño tumoral	0,723	6	5 %
Recurrencia local	0,835	3	5 %
Recurrencia a distancia	0,067	3	5 %
Intervalo libre de enfermedad	0,288	6	5 %

Al realizar el análisis mediante el método de Kaplan-Meier, se evidencia que de las 20 pacientes que no sobre-expresaron c-erbB-2 tres recaen (15 %); la primera recae a los 23 meses, la segunda a los 32 meses y la tercera a los 51 meses. El intervalo libre de enfermedad promedio de estas pacientes fue de 103 meses, con un nivel de confianza del 95 % (87-119 meses). De las 4 pacientes que presentaron sobre-expresión 1+ del c-erbB-2, sólo una recae (25 %) a los 12 meses. El intervalo libre de enfermedad promedio de estas pacientes fue de 68 meses, con un nivel de confianza del 95 % (36-100 meses). De las 3 pacientes que presentaron sobre-expresión 2+ del c-erbB-2 ninguna recae. La única paciente que presentó sobre-expresión 3+ del c-erbB-2 recae a los 60 meses. Esta paciente representa el 100 %. (Figura 1).

De las 20 pacientes que no sobre-expresaron c-erbB-2, sólo muere una paciente (5 %) y hace a los 11 meses. La supervivencia promedio de estas pacientes fue de 114 meses, con un nivel

de confianza del 95 % (104-124 meses). Ninguno de los pacientes que sobre-expresaron c-erbB-2 mueren. La proporción de pacientes que sobrevive es del 96,43 %.

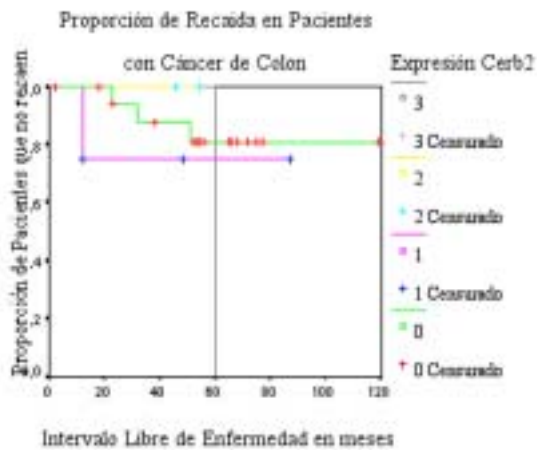


Figura 1. Proporción de recaída en pacientes con cáncer de colon.

En vista de que sólo se registró una muerte en toda la población en estudio no pudieron realizarse curvas de supervivencia mediante el método de Kaplan-Meier.

DISCUSIÓN

La resección quirúrgica es el tratamiento primario en el cáncer colorrectal, y el espécimen quirúrgico provee datos esenciales para el manejo de estos pacientes. La estadificación no siempre es suficiente para predecir el riesgo de recurrencia o la necesidad de tratamiento adyuvante, especialmente para pacientes en estadio II según la AJCC (T3-T4, N0, M0). Existe una gran diversidad de factores biológicos en el carcinoma colorrectal que pudieran ayudar

a suplementar el sistema de estadificación y proveer las bases de implementación de estrategias terapéuticas basándose en la biología del tumor. Muchos autores han tratado de estudiar la reorganización de los indicadores biológicos de la proliferación celular, la degradación de la matriz extracelular, y la angiogénesis en estas neoplasias⁽⁴⁾.

Múltiples proto-oncogenes, factores reguladores y genes supresores tienen un papel dominante en la patogénesis en el cáncer colorrectal. Las mutaciones de los genes producen proteínas estables que pueden usarse como indicadores pronósticos en pacientes con esta patología⁽⁵⁾.

El c-erbB-2 es un oncogén localizado en el cromosoma 17q21 que pertenece al grupo de los factores de receptores de crecimiento epitelial. Los niveles elevados de c-erbB-2 han sido demostrados en varios tumores epiteliales sólidos malignos de mama, ovario, pulmón, estómago y colon. Varios estudios muestran la correlación entre los niveles séricos de c-erbB-2 y la expresión del c-erbB-2 en el tumor y su fenotipo metastásico⁽⁸⁾. La alteración de este gen en los pacientes con cáncer de mama está asociado a un mayor grado histológico, reducción de la supervivencia y respuesta insatisfactoria a determinados esquemas de quimioterapia y hormonoterapia. Muchos estudios han tratado de extrapolar estos resultados a otros tipos de cánceres, entre ellos el colorrectal.

En nuestro estudio, se evaluó la expresión del c-erbB-2 en las células neoplásicas de 28 pacientes con cáncer de colon mediante técnica de inmunohistoquímica. En 6 pacientes se realizó Herceptest[®] confirmatorio. La sobre-expresión del c-erbB-2 en nuestra serie fue de 28,57 % (8 pacientes) lo cual es comparable a los resultados obtenidos en la literatura internacional^(9,11,16-18). En la serie publicada por Nathanson y col.⁽¹⁴⁾ realizada en el *Memorial Sloan-Kettering Cancer Center* se estudió la

sobre-expresión del c-erbB-2 en 169 pacientes con cáncer de colon, evidenciando una prevalencia de 3,6 %.

La amplificación del gen o la sobre expresión de la oncoproteína c-erbB-2 se han relacionado con alta actividad mitótica en las células neoplásicas, estadios avanzados de la enfermedad según la clasificación de Dukes, riesgo de metástasis hepáticas y menor sobrevida⁽⁸⁾. En nuestra serie la mayoría de los tumores que no expresaron c-erbB-2 se clasificaron como estadio II y un porcentaje elevado de tumores que expresaron 2+ c-erbB-2 se clasificaron como estadio III. Otros autores⁽¹²⁾ a pesar de no encontrar asociación entre la sobre-expresión del c-erbB-2 y el pronóstico de los pacientes con cáncer de colon evidenciaron que la sobre-expresión de c-erbB-2 y de c-erbB-3 fue baja (21 %) en pacientes con estadios tempranos (I y II), mientras que era elevada en pacientes con estadios tardíos de la enfermedad. Al evaluar la profundidad de invasión del tumor primario de colon (pT según la clasificación TNM del AJCC) no se encontró una correlación estadísticamente significativa entre ésta y la sobre-expresión del c-erbB-2. Estos hallazgos son similares a los observados en la serie de Nathanson y col.⁽¹⁴⁾ donde el uso de los métodos de inmunohistoquímica reveló una tasa baja de sobre expresión de c-erbB-2 no teniendo correlación con el estadio a diferencia de lo reportado en otras series^(7,8).

El factor pronóstico más importante en el cáncer colorrectal es el estado ganglionar. Es importante hacer notar que a pesar de no haber evidenciado una correlación estadísticamente significativa entre la sobre-expresión de la oncoproteína y el estadio según la clasificación TMM o la profundidad de invasión tumoral, encontramos significancia estadística al relacionarla con el estado ganglionar del paciente (N) ($P < 0,034$).

Al analizar el grado de diferenciación de las células tumorales se evidenció que el 67 % de

los tumores con sobre-expresión 2+ del c-erbB-2 eran poco diferenciados (G III), mientras que el 70 % de los tumores que no expresaron c-erbB-2 eran bien diferenciados (G I) existiendo una correlación estadísticamente significativa ($P < 0,002$) entre el grado de diferenciación y la sobre-expresión citoplasmática de la oncoproteína. Half y col.⁽¹⁹⁾ encontraron que la localización citoplasmática del c-erbB-2, evidenciada en 63,5 % de las células cancerosas colorrectales, se correlaciona con la diferenciación del tumor pero no con otras variantes clínico-patológicas como el estadio y la afección ganglionar. Por otra parte la localización membranosa es mucho más infrecuente (5 % de las células neoplásicas) y se asoció con mayores niveles de RNA mensajero (c-erbB-2 mRNA) y amplificación del gen. Estos datos sugieren que la sobre-expresión en la membrana y la amplificación del gen se han asociado con un rol oncogénico mientras que el c-erbB-2 citoplasmático es un marcador de diferenciación tumoral⁽¹⁹⁾. Otro estudio que evalúa la localización de la expresión de la oncoproteína y sus implicaciones clínicas y patológicas es el de Kay y col.⁽²⁰⁾. En esta serie de 164 pacientes con cáncer de colon estadio Dukes B no hubo evidencia de c-erbB-2 en la membrana mientras que el 33,5 % de los casos mostraron c-erbB-2 en el citoplasma y tuvieron peor pronóstico. Essapen y col.⁽²¹⁾ concluyen que la expresión citoplasmática de c-erbB-2 es el patrón predominante en las células neoplásicas colónicas. Mientras que la expresión membranosa no tuvo correlación con variables clínicas, la expresión citoplasmática se correlacionó con una mayor sobrevida únicamente en los estadios Dukes C. Esto coincide con lo reportado por Sun y col.⁽²²⁾ quienes encuentran un mejor pronóstico en aquellos pacientes con células tumorales aneuploides que sobre-expresaron c-erbB-2. Una razón que explique este mejor pronóstico en este subgrupo de pacientes es que al estar el c-erbB-2 sobre-expresado en el citoplasma, éste no tiene

posibilidad de transmitir señales mitogénicas mediante heterodimerización con otros miembros de la familia del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Es también por esta razón que la sobre-expresión citoplasmática no tiene valor terapéutico⁽²¹⁾. Por otra parte la terapia con anticuerpos monoclonales sería útil cuando se evidencia sobre-expresión en la membrana celular ya que puede haber unión del anticuerpo al receptor en la membrana y la consiguiente traducción de señales.

Es de gran importancia identificar cuales son los factores que pueden intervenir en la incidencia de recurrencias locales y a distancia. Barozzi y col.⁽⁴⁾ estudiaron la relevancia de los marcadores biológicos en el carcinoma colorrectal, comparando 2 grupos de especímenes quirúrgicos entre pacientes con carcinoma colorrectal con y sin metástasis, demostrando que los niveles de factor transformador de crecimiento (TGF- α), c-erbB-2, metaloproteinasa de matriz-2 (MMP-2), factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-II), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y densidad microvascular (MVD) fueron significativamente más altos en el grupo de pacientes metastásicos. La expresión de al menos tres marcadores (específicamente TGF- α , IGF-II y MMP-2) en al menos 25 % se relacionó con una probabilidad de 99,8 % de desarrollar metástasis hepáticas. En nuestra serie el intervalo libre de enfermedad (ILE) promedio de los pacientes estudiados fue de 49 meses. Un intervalo libre de enfermedad prolongado (mayor a 61 meses) se evidenció en 40 % de los pacientes que no sobre-expresaron el c-erbB-2. Sólo 2 pacientes tuvieron recurrencia local (7,14 %) y 4 pacientes (14,29 %) recurrieron a distancia. Ninguno de los pacientes que recurrió localmente expresó c-erbB-2. El único paciente que tuvo sobre-expresión 3+ de c-erbB-2 recurrió a distancia y lo hizo a pulmón. De los 24 pacientes que no desarrollaron metástasis, 18 (75 %) no expresaron c-erbB-2. En esta serie sólo se registró una muerte lo que

hizo que no fuese posible analizar la sobrevida en función de la sobre-expresión del c-erbB-2. No se encontró correlación entre la expresión de la oncoproteína y la recurrencia, bien sea local o a distancia, o el intervalo libre de enfermedad, lo que concuerda con lo reportado por varios autores quienes concluyen que el c-erbB-2 juega un papel infrecuente en la progresión del cáncer de colon, pronóstico y sobrevida^(9,10,14,18).

A pesar que existen infinidad de marcadores biológicos cuyo valor pronóstico está siendo actualmente estudiado en el cáncer de colon, la prevalencia y significancia de la amplificación del gen c-erbB-2 ha sido pobremente documentada. La progresión del tumor es el resultado de una serie de eventos y de una larga variedad de interacciones moleculares y el relativo peso de los marcadores biológicos potenciales puede variar considerablemente. No hay todavía consenso acerca de la relación entre la sobre expresión del c-erbB-2 y el tamaño tumoral, grado histológico, estadio TNM o Dukes, estado ganglionar o la recurrencia local y a distancia. Los resultados reportados en la literatura internacional son muy variables. Esto puede deberse a que la mayoría de los estudios son retrospectivos o series prospectivas muy pequeñas no realizados con métodos inmunohistoquímicos estandarizados. Actualmente ha surgido el Herceptest[®] como un método estandarizado para identificar la expresión del c-erbB-2. Esto permitirá la obtención de datos más consistentes y uniformes a nivel internacional. En nuestra serie concluimos que si existe relación entre la sobre expresión del c-erbB-2 y el grado histológico, así como con la presencia de ganglios positivos.

La utilidad clínica y práctica de establecer el valor pronóstico de la expresión del c-erbB-2 se basa en la posibilidad de establecer estrategias terapéuticas con el uso de anticuerpos monoclonales específicos contra este receptor. Se ha observado que el tratamiento de ciertas líneas celulares de cáncer de colon con el

anticuerpo inhibidor de c-erbB-2 mAb 4D5 (trastuzumab) ha tenido efecto en la mediación de la proliferación celular, apoptosis y tumorigenicidad⁽²³⁾.

Es difícil tener una gran experiencia institucional. Para obtener mejores resultados en el estudio de los factores pronósticos es necesario unir la experiencia de múltiples instituciones, realizar estudios prospectivos y estandarizar los métodos utilizados. La mayoría de los estudios al igual que el nuestro son retrospectivos o investigaciones prospectivas pequeñas. Sin embargo, nosotros encontramos que la sobre expresión citoplasmática del c-erbB-2 tuvo una relación estadísticamente significativa con el grado de diferenciación como se ha descrito en la literatura; igualmente estos pacientes mostraron mayor porcentaje de metástasis ganglionares. Sin embargo, no

encontramos correlación entre el intervalo libre de enfermedad o sobrevida y la sobre-expresión de la oncoproteína, no pudiendo establecer un definitivo valor pronóstico de este marcador en el cáncer de colon.

La utilidad clínica y práctica de establecer el valor pronóstico de la expresión del c-erbB-2 se basa en la posibilidad de establecer estrategias terapéuticas con el uso de anticuerpos monoclonales específicos contra este receptor. Si se llega a demostrar que la sobre-expresión citoplasmática no tiene valor terapéutico, la terapia con anticuerpos monoclonales sería dirigida únicamente a los pacientes que sobre-expresen el c-erbB-2 en la membrana celular.

Es necesario unir la experiencia de múltiples instituciones, realizar estudios prospectivos y estandarizar los métodos utilizados.

REFERENCIAS

- Rodríguez A. Cáncer de colon. Ganglio centinela en cáncer de colon. En: Calderaro F, Tejada A, Briceño JM, editores. Manual del XXXI Curso Básico de Oncología. Caracas: Graphologic; 2002.p.71-79.
- Choti MA, Bulkley GB. Management of hepatic metastases. *Liver Transpl Surg.* 1999;5(1):65-80.
- Fleming ID, Cooper JS, Henston DE, Hutter RV, Kennedy BJ, Murphy GP, et al. *AJCC Cancer Staging Handbook.* From the AJCC Staging Manual. 5ª edición. Filadelfia: Lippincott, Williams and Wilkins; 1998.
- Barozzi C, Ravaioli M, D'Errico A, Grazi GL, Poggioli G, Cavrini G, et al. Relevance of biologic markers in colorectal carcinoma: A comparative study of a broad panel. *Cancer.* 2002;94(3):647-657.
- Compton CC. Colorectal carcinoma: Diagnostic, prognostic, and molecular features. *Mod Pathol.* 2003;16(4):376-388.
- Yamauchi T, Watanabe M, Kubota T, Hasegawa H, Ishii Y, Endo T, et al. Cyclooxygenase-2 expression as a new marker for patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 2002;45(1):98-103.
- Kapitanovic S, Radosevic S, Kapitanovic M, Andelinovic S, Ferencic Z, Tavassoli M, et al. The expression of p185 (HER-2/neu) correlates with the stage of disease and survival in colorectal cancer. *Gastroenterology.* 1997;112(4):1103-1113.
- Tsigris C, Karayiannakis AJ, Zbar A, Syrigos KN, Baibas N, Diamantis T, et al. Clinical significance of serum and urinary c-erbB-2 levels in colorectal cancer. *Cancer Lett* 2002;184(2):215-222.
- Nakae S, Shimada E, Urakawa T. Study of c-erbB-2 protein and epidermal growth factor receptor expression and DNA ploidy pattern in colorectal carcinoma. *J Surg Oncol.* 1993;54(4):246-251.
- D'Emilia J, Bulovas K, D'Ercole K, Wolf B, Steele G Jr, Summerhayes IC. Expression of the c-erbB-2 gene product (p185) at different stages of neoplastic progression in the colon. *Oncogene.* 1989;4(10):1233-1239.
- Maurer CA, Friess H, Kretschmann B, Zimmermann A, Stauffer A, Baer HU, et al. Increased expression of erbB3 in colorectal cancer is associated with concomitant increase in the level of erbB2. *Hum Pathol.*

- 1998;29(8):771-777.
12. Tal M, Wetzler M, Josefberg Z, Deutch A, Gutman M, Assaf D, et al. Sporadic amplification of the HER2/neu protooncogene in adenocarcinomas of various tissues. *Cancer Res.* 1988;48(6):1517-1520.
 13. Golijow C, Guerci A, Mouron S, Abba M, Dulout FN, Ottino A, et al. Activation of K-ras and c-erbB-2 protooncogenes in human colonic adenocarcinomas. *Acta Gastroenterol Latinoam.* 2001;31(2):71-76.
 14. Nathanson DR, Culliford AT 4th, Shia J, Chen B, D'Alessio M, Zeng ZS, et al. HER 2/neu expression and gene amplification in colon cancer. *Int J Cancer.* 2003;105(6):796-802.
 15. Osako T, Miyahara M, Uchino S, Inomata M, Kitano S, Kobayashi M. Immunohistochemical study of c-erbB-2 protein in colorectal cancer and the correlation with patient survival. *Oncology.* 1998;55(6):548-555.
 16. Ross JS, McKenna BJ. The HER-2/neu oncogene in tumors of the gastrointestinal tract. *Cancer Invest.* 2001;19(5):554-568.
 17. Caruso ML, Valentini AM. Immunohistochemical p53 overexpression correlated to c-erbB-2 and cathepsin D proteins in colorectal cancer. *Anticancer Res.* 1996;16(6B):3813-3818.
 18. Lee JC, Wang ST, Chow NH, Yang HB. Investigation of the prognostic value of coexpressed erbB family members for the survival of colorectal cancer patients after curative surgery. *Eur J Cancer.* 2002;38(8):1065-1071.
 19. Half E, Broaddus R, Danenberg KD, Danenberg PV, Ayers GD, Sinicrope FA. HER-2 receptor expression, localization, and activation in colorectal cancer cell lines and human tumors. *Int J Cancer.* 2004;108(4):540-548.
 20. Kay EW, Mulcahy H, Walsh CB, Leader M, O'Donoghue D. Cytoplasmic c-erbB-2 protein expression correlates with survival in Dukes' B colorectal carcinoma. *Histopathology.* 1994;25(5):455-461.
 21. Essapen S, Thomas H, Green M, De Vries C, Cook MG, Marks C, et al. The expression and prognostic significance of HER-2 in colorectal cancer and its relationship with clinicopathological parameters. *Int J Oncol.* 2004;24(2):241-248.
 22. Sun XF, Carstensen JM, Stal O, Zhang H, Nordenskjold B. c-erbB-2 oncoprotein in relation to DNA ploidy and prognosis in colorectal adenocarcinoma. *APMIS.* 1995;103(4):309-315.
 23. Kuwada SK, Scaife CL, Kuang J, Li X, Wong RF, Florell SR, et al. Effects of trastuzumab on epidermal growth factor receptor-dependent and independent human colon cancer cells. *Int J Cancer.* 2004;109(2):291-301.