ARTÍCULO DE REVISIÓN

Rev Venez Oncol 2012;24(3):231-243

VARIACIÓN EN EXPRESIÓN DE MARCADORES MOLECULARES ENTRE COMPONENTES INTRADUCTAL E INFILTRANTE DEL CARCINOMA DE MAMA

VILMA E REBOLLEDO P, ALDO REIGOSA Y, EDUARDO CALEIRAS-P, MARIO PALACIOS C.

CENTRO DE INVESTIGACIONES MÉDICAS Y BIOTECNOLÓGICAS (CIMBUC). DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL DEL SUR, ESCUELA DE MEDICINA, DEPARTAMENTO DE MORFOFISIOPATOLOGÍA. HOSPITAL METROPOLITANO DEL NORTE, INSTITUTO DE ONCOLOGÍA "DR. MIGUEL PÉREZ CARREÑO", DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, FACULTAD EXPERIMENTAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (FACYT). UNIVERSIDAD DE CARABOBO, VENEZUELA

RESUMEN

OBJETIVO: Valorar variación de expresión de marcadores moleculares entre componente intraductal y ductal infiltrante. **MÉTODO:** Evaluamos expresión de biomarcadores moleculares RE, RP, p53, Her-2, Bcl2 en pacientes con carcinoma de mama, durante el período 1999-2006. La muestra conformada por 243 casos se seleccionó con criterios de inclusión: sexo femenino, diagnóstico histológico de carcinoma ductal infiltrante con componente intraductal. **RESULTADOS:** Promedio de edad 42,13 años, 48,14 % menores de 50 años. Marcadores moleculares RE, RP, p53, Bcl2, Her-2, expresaron en ambos componentes del tumor en más del 70 %, presentando expresión de cada uno diferencias, según tipo histológico. Bcl2, RE, RP y p53 fueron más positivos en el componente infiltrante que en intraductal, siendo significativa para RP (P=0,04) y proteína p53 (P=0,00001), Her-2/neu se observó más positivo en componente intraductal que en invasor (P=0,02). La intensidad del inmunomarcaje RP y p53 se expresaron con comportamiento de más ganancia que pérdida en tinción en componente infiltrante, contrario a lo observado para Her-2/neu. Correlación de expresión de marcadores moleculares entre ambos componentes histológicos y edad de paciente, el RE, RP, Bcl2 y proteína p53 se comportaron con ganancia en inmunomarcaje en componente infiltrante en mayores de 50 años, resultando significativa la asociación para RE (P=0,04). El análisis de variables del estudio no demostró asociación estadísticamente significativa. **CONCLUSIÓN:** La variación de expresión de marcadores moleculares entre componente intraductal e infiltrante en carcinoma de mama se asocia al grado de malignidad de la lesión.

PALABRAS CLAVE: Cáncer, mama, expresión proteica, intraductal, infiltrante, carcinogénesis.

SUMMARY

OBJECTIVE: To assess variation in expression of molecular markers between intraductal and infiltrating ductal. **METHODS:** Evaluated expression of molecular biomarkers ER, PR, p53, Her-2, Bcl-2 in patients with breast cancer, during the period 1999 to 2006. 243 cases were selected according inclusion criteria: female gender, histological diagnosis of infiltrating ductal carcinoma with intraductal component. **RESULTS:** The average it was 42.13 years 48.14 % of them were younger than 50 years. Molecular markers ER, PR, p53, Bcl2, Her-2 were expressed in both components in more than 70 % cases, presenting the expression of individual differences, according to the histological type. The Bcl2, ER, PR, p53 were more positive in infiltrating intraductal component, difference being significant for RP (P = 0.04) and p53 (P = 0.00001), Her-2 /neu more positive was observed in intraductal component than in invasive (P = 0.02). Considering intensity of PR and p53 immunostaining were expressed as a behavior more gain than loss of staining in invasive component, contrary to observed for Her-2/neu. Correlation of expression of molecular markers between the two histological components and age, ER, PR, Bcl2 and p53 protein behaved gain in immunostaining in invasive component in over 50 years, resulting significantly association to ER (P = 0.04). Analysis of other variables showed no statistically significant association between them. **CONCLUSION**: The variation of the expression of molecular markers between the intraductal and infiltrating breast carcinoma is associated with the degree of malignancy of the lesion.

KEY WORDS: Cancer, breast, protein expression, intraductal, infiltrate, carcinogenesis.

Recibido: 15/12/2012 Revisado: 22/03/2012
Aceptado para publicación: 03/05/2012

Correspondencia: Dra. Vilma Rebolledo. Centro de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas de la Universidad de Carabobo (CIMBUC). Facultad de Ciencias de la Salud, Av. Universidad, Bárbula, Valencia, Venezuela. Teléfono: +58-241-8666243. Fax: +58-241-8666243. E-mail: rebvilma@hotmail.com.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es la neoplasia maligna más frecuente en la población femenina a nivel mundial. Por su frecuencia, cantidad de recursos que consume y la alarma social que genera, es considerada un problema de salud generalmente prioritario para las administraciones sanitarias en todo el mundo [1-7]. El interés por comprender su comportamiento y los mecanismos de su génesis han generado en estas últimas cinco décadas numerosas investigaciones. Desde aquellas que se enfocaron en las características clínicas, morfológicas [8-12], determinaron por primera vez los receptores hormonales y sus isoformas u otros marcadores moleculares, hasta los basados en el perfil genético de la neoplasia [8-25], todos han contribuido a construir los conocimientos que hasta ahora se tienen sobre la misma, resaltando una biología aún desconocida y su heterogeneidad.

Un gran aporte de aquellas es comprender hoy en día que su origen no solo responde a influencia hormonal y del medio ambiente, sino también que es el resultado de la acumulación de una serie de mutaciones genéticas y su desarrollo, un proceso secuencial de múltiples etapas, que se inicia con las alteraciones en el epitelio de la unidad ducto-lobular normal, determinando en conjunto la aparición y progresión del carcinoma [11,26]. La mayoría de esas alteraciones genéticas, conocidas en el carcinoma infiltrante, también están presentes en el intraductal [11,26-28]. Sin embargo, los procesos de iniciación, como las vías precisas de la génesis tumoral de la mama son aún poco conocidas, apuntando la evidencia clínico-patológica actual, la teoría de que la mayoría de las lesiones invasoras se desarrollan a partir de las lesiones intraductales, sin aún descifrar, el crítico acontecimiento de inicio y la subsecuente secuencia de eventos celulares asociados con dicha progresión, ni con los que ocurren para una metástasis regional, a distancia o en una lesión recurrente [11,21,22,24,28].

Partiendo de esa interrogante que representan la secuencia de eventos desconocidos dentro del epitelio mamario para la progresión de un carcinoma no invasor a infiltrante y representando los marcadores moleculares la expresión de los productos proteicos del perfil genético de la neoplasia que pueden contribuir a identificar dichos cambios, se realizó un análisis de la expresión de los marcadores moleculares, más comúnmente determinados por técnica de inmunohistoquímica, entre el componente intraductal y el ductal infiltrante presentes en el mismo tumor de mama.

MÉTODO

Se realizó un estudio no experimental, transversal de tipo descriptivo-correlacional, del resultado inmunohistoquímico de pacientes con diagnóstico de carcinoma de mama, a quienes se les practicó dicha evaluación en laboratorio de anatomía patológica del Hospital Metropolitano del Norte durante los años 1999 al 2006. Se revisó el archivo de láminas de inmunohistoquímica, identificándose 1 094 casos de carcinoma de mama y sus correspondientes resultados. De los anteriores se evaluaron aquellos cuyas láminas de hematoxilina eosina (HE) se encontraban en buenas condiciones, examinándose al microscopio de luz 1 090 de las mismas. Se seleccionaron los casos que cumplieron los criterios de inclusión como sexo femenino e histología ductal infiltrante con componente intraductal, lo cual fue verificado en 243, a los que seguidamente se les valoró la expresión de los marcadores moleculares para receptor de estrógeno (RE), receptor de progesterona (RP), la proteína p53, Bcl2 y Her-2 en ambos componentes histológicos, excluyendo los estudios inmunohistoquímicos que mostraron sobre fijación de la muestra, representados por la negatividad de todos los marcadores moleculares, en especial del Ki-67.

Consecutivamente se recopiló la información de las láminas pertinentes, como del análisis anatomopatológico definitivo y de las historias clínicas disponibles, evaluando además el tamaño tumoral, estado de los ganglios linfáticos, grado histológico, estadio clínico y la edad. Los datos se recopilaron en un instrumento para tal fin.

En su momento, el procesamiento de los cortes tisulares, se realizó por inmersión en solución de formol al 10 % e inclusión en parafina. El estudio inmunohistoquímico fue efectuado bajo el método de la estreptavidina-biotina-peroxidasa con el sistema Inmunon de Dako®, con los anticuerpos, clones, dilución y punto de corte como se describe en el (Cuadro 1). De cada bloque de parafina se realizaron cortes seriados de 2 μ de espesor, que se colocaron en una lámina portaobjeto, tratada con poli-L-lysina secándose con la estufa a 60 °C. Se desparafinaron con 2 pases en xilol y deshidrataron con alcoholes a concentraciones decrecientes (100 %, 95 %, 70 %). La recuperación antigénica se realizó en horno microonda, con buffer citrato pH 6 y el bloqueo de la peroxidasa endógena se realizó agregando una gota de peróxido de hidrógeno al 3 % por 10 min. Se prosiguió agregando 50 micro-landas del anticuerpo monoclonal primario (RE, RP, Her-2, p53, Bcl2 y Ki-67), 1 gota del anticuerpo secundario por 30 min, y 1 gota de estreptavidina conjugada con peroxidasa por 30 min. La reacción enzimática se reveló con 3' 5'-diaminobencidina, agregando 1 gota del cromógeno. Entre cada paso se lavaron las preparaciones con *buffer* pH 7,4. Al final los cortes se colorearon con HE, deshidrataron y rehidrataron para el montaje con Martex identificándose con fecha y número el caso.

El resultado del marcaje inmunohistoquímico en las células tumorales se define por la tinción a nivel nuclear para el receptor de estrógeno, progesterona y p53, citoplasmático para el Bcl2 y de la membrana citoplasmática para el Her-2. La positividad fue medida en una escala semi-cuantitativa en cruces y porcentajes. El marcaje del receptor de estrógeno, progesterona, p53 y Bcl2, se tomó como 0 o negativo, cuando no hay tinción y positivo si la hay, es 1+, cuando es leve y corresponde entre 10 % a 29 % de las células neoplásicas marcadas, 2+ es moderada y entre el 30 % a 69 % o 3+ al ser intensa y tiñe el 70 % a 100 % de los núcleos o el citoplasma según el marcador molecular. El marcaje del Her-2/neu se tomó como negativo cuando es 0 y no hay tinción de membrana o es 1+ y aquella es débil e incompleta si marca al menos el 10 % de las células tumorales. Es positivo, 2+ cuando la tinción es moderada y completa en toda la membrana en más del 10 % y 3+ cuando es intensa en toda la membrana celular en más del 10 % de la población tumoral. En la evaluación de la inmunotinción se emplearon controles adecuados positivos y negativos. Al valorar la expresión de los marcadores moleculares según el componente histológico del tumor desde el carcinoma no invasor al invasor, la inmunotinción permitió distinguir inicialmente tres categorías de la misma: negativos/positivos, cuando no existe expresión en el intraductal (negativos) y si en

Cuadro 1. Anticuerpos monoclonales, clon, dilución, fuente y valores de corte

Anticuerpo	Clon	Dilución	Fuente	Valor de corte %
RE	1D5	1:500	Dako®	≥ 5 (Positivo)
RP	1A6	1:500	"	≥ 5 (Positivo)
p53	D07	1:500	"	≥10 (Positivo)
Her-2	CerbB2	1:500	"	< 30 (Negativo)
Bcl2	124	1:500	"	≥ 10 (Positivo)

infiltrante (positivos), o lo contrario positivos/negativos, e iguales para los que mantienen el marcaje, fuera este negativo o positivo en ambos tipos histológicos, seguidamente y por la variación de la intensidad de la inmunotinción o marcaje, se diferenció también como ganancia cuando aumenta la intensidad de expresión por el número de cruces desde el carcinoma intraductal al infiltrante, pérdida cuando decrecen aquellas en la misma dirección e iguales para los que mantienen su expresión sin cambios en ambos componentes. Los resultados se presentaron en cuadros. En el análisis estadístico para las variables cualitativas se calcularon frecuencias absolutas y relativas y a las cuantitativas la media. Se utilizó la prueba de χ^2 con el fin de determinar si existían diferencias significativas. El nivel de significancia estadística considerado fue de $P < 0,05$.

RESULTADOS

De los casos incluidos en el estudio, la edad solamente se precisó en 205 en los cuales el promedio de misma fue 42,13 años. En relación al grado histológico de cada componente, en el intraductal más del 60 % fue de bajo grado y en el ductal infiltrante, más del 30 % fue grado II del total de aquellos donde esta característica se conoció. El tamaño tumoral fue variable y osciló entre menores de 2 cm a 5 cm en 44,02 % del total de los casos donde se registró el dato. De los 115 casos donde se conoció el estadio clínico y el estatus de los ganglios axilares, más del 20 % eran estadio II y más del 20 % presentaron enfermedad metastásica regional. El tratamiento con quimioterapia adyuvante se llegó a precisar en solo 40,32 % de los casos (Cuadro 2). Los receptores hormonales, como la proteína p53, Bcl2 y Her-2/neu se expresaron en ambos componentes del tumor (intraductal e infiltrante) en más del 70 % de los casos, aunque la expresión fue diferente de acuerdo al tipo histológico donde se observaron.

Se apreció para el Bcl2, RE, RP y p53 que fueron más positivos en el componente infiltrante que en intraductal, incluso en mayor número de casos los dos últimos (RP y p53), siendo significativa la diferencia para el RP (P=0,04) y la proteína p53 (P=0,00001), (Figura 1 y 4), mientras el Her-2 se observó más positivo en el componente intraductal que en el invasor (Figura 5 y 6), (Cuadro 3).

Al evaluar la intensidad de inmunotinción o marcaje se apreció un patrón variable de los marcadores según el componente histológico del tumor. Para el RP (Figura 1 y 2) y p53 (Figura 3 y 4) se observó un comportamiento de más ganancia que pérdida en la tinción en el componente infiltrante, contrario a lo observado con el Her-2 (Figura 5 y 6), el cual tiene pérdida en la intensidad de marcaje sobre el componente invasor y ganancia en el intraductal, representando significancia la diferencia de su expresión (Her-2 P=0,02). El Bcl2 se expresó con muy poca variación entre ambos tipos histológicos del tumor, aunque con leve ganancia en el tejido infiltrante (Cuadro 4).

Al correlacionar la variación de la expresión de los marcadores moleculares según el componente histológico y el tamaño del tumor, se observó que los receptores hormonales, Bcl2 y Her-2 en más del 60 % de los casos mantienen una intensidad de marcaje igual en los dos componentes histológicos, con un tamaño tumoral variable. Sin embargo, al evaluar la intensidad de la expresión, se observó que la ganancia en el inmunomarcaje es mayor para la proteína p53 con el aumento progresivo del tamaño tumoral en el componente infiltrante (40 % a 75 % de los casos), que para el Her-2, sin representar diferencias significativas (p53 P=0,36 y Her-2 p=0,15), (Cuadro 5). En la correlación entre la variación de la expresión de los marcadores moleculares según el componente (intraductal e infiltrante) y el grado histológico del tumor, se observó que el RE, RP, Bcl2, p53 y Her2, mantienen igual su expresión en más del 50 % de los casos, a mayor grado histológico en el componente infiltrante (grado II-III), (Cuadro 6).

Cuadro 2. Características generales de las pacientes con carcinoma de mama con ambos componentes, intraductal - ductal infiltrante

Características	Indicador	n	%
Edad	≤ 50 años	117	48,14
	> 50 años	88	36,21
	No conocida	38	15,63
Grado histológico del intraductal	BGSN	75	30,86
	BGCN	92	37,86
	AGSN	14	5,76
	AGCN	62	25,51
Grado histológico del ductal infiltrante	I	11	4,52
	II	85	34,97
	III	20	8,23
	No conocido	127	52,26
Tamaño tumoral	< 2 cm	35	14,4
	2 – 5 cm	72	29,62
	> 5 cm	8	3,29
	No conocido2	128	52,67
Estado nodal	Con metástasis	63	25,92
	Sin metástasis	52	21,39
	No conocido2	128	52,67
Estadio clínico	I	26	10,69
	II	58	23,86
	III	40	16,46
	IV	4	1,64
	Sin estadio 1	115	47,32
Neoadyuvancia	Si	71	29,21
	No	27	11,11
	No conocida1	145	59,67

[1] Casos en los cuales el dato no venía indicado en la hoja de solicitud.

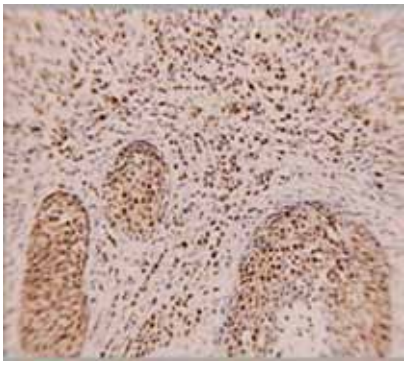

Figura 1. Carcinoma de mama. RP 100X. RP marcando ambos en componentes del tumor (intraductal e infiltrante).

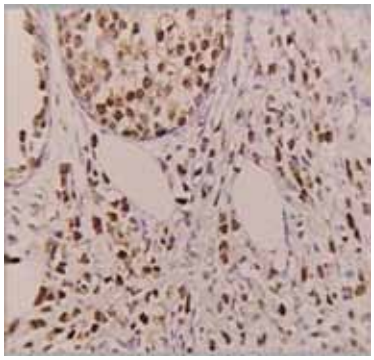

Figura 2. Carcinoma de mama. RP 200X. RP marcando 50 % (2+) en el componente intraductal y el 90 % (3+) en el componente infiltrante.

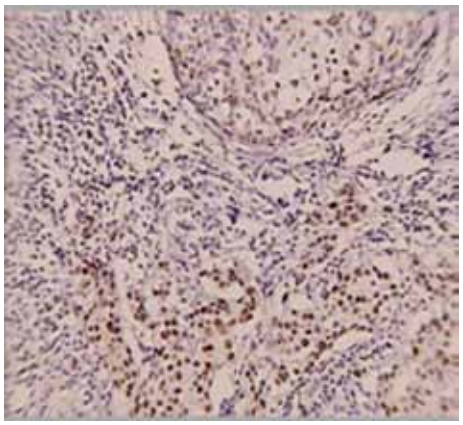

Figura 3. Carcinoma de mama. p53 100X. Proteína p53 marcando en ambos componentes del tumor (intraductal e infiltrante).

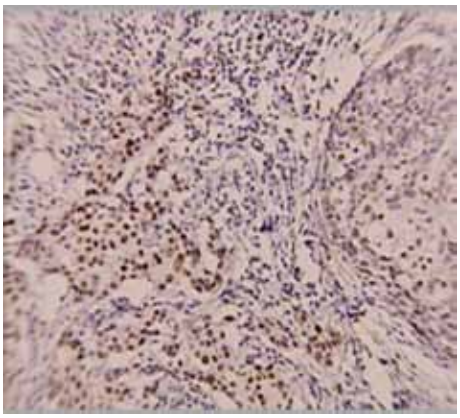

Figura 4. Carcinoma de mama. p53 200X. Proteína p53 marcando 20 % (2+) en el componente intraductal y el 90 % (3+) en el componente infiltrante.

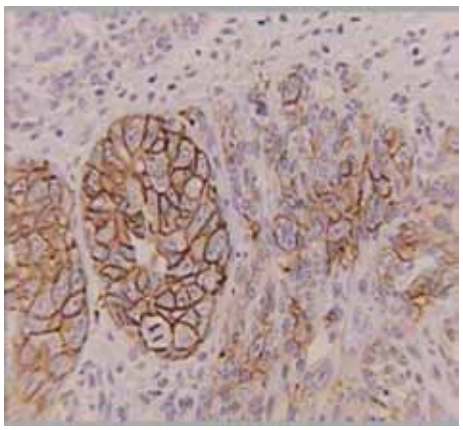

Figura. 5. Carcinoma de mama. Her 2. 200X.
Her-2 positivo en ambos componentes (intraductal e infiltrante).

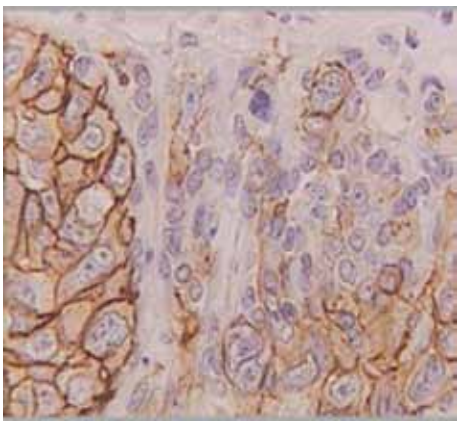

Figura 6. Her- 2. 400X.
Her 2 positivo fuerte (3+) en el componente intraductal y positivo débil (2+) en el infiltrante.

Al correlacionar la variación de la expresión del RE, RP, p53, Bcl2 y Her-2 entre los componentes histológicos del tumor y el estadio clínico se observó que la expresión, se mantiene igual en ambos componentes del tumor sin afectación marcada por el estadio. Sin embargo, al observar la intensidad de expresión en el tejido infiltrante, la ganancia en marcaje es menor que la pérdida a mayor estadio clínico para el RE y Bcl2 que para el RP, contrario a lo que ocurre con el p53 que gana más en marcaje que lo que pierde a menor estadio clínico. En cuanto al Her-2, la pérdida de intensidad de expresión, se aprecia que tiende a ser sutilmente mayor a menor estadio (II y I). La correlación entre las variables no mostró diferencia estadísticamente significativa para ningún marcador ($P = > 0,05$).

Cuadro 3. Expresión de los marcadores moleculares (RE, RP, P53, BCL2, HER-2) según el componente intraductal - ductal infiltrante en el carcinoma de mama

Componente intraductal/ductal infiltrante	RE		RP		p53		Bcl2		Her-2	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Negativos/positivos	12	5,15	17	7,26	26	18,18	4	5,06	14	6,30
Positivos/negativos	5	2,14	7	3,33	3	2,09	1	1,26	20	9,00
Iguales	216	92,70	210	89,74	114	79,72	74	93,67	188	84,68
Total	233	100	234	100	143	100	79	100	222	100

RP: P=0,04
p53: P=0,00001

Cuadro 4. Variación de la expresión de los marcadores moleculares (RE, RP, p53, Bcl2, Her-2/neu) según el componente intraductal - ductal infiltrante en el carcinoma de mama

Componente intraductal/ductal infiltrante	RE		RP		p53		Bcl2		Her-2	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Ganancia	18	7,72	33	14,10	46	32,1	8	10,12	19	8,55
Pérdida	26	11,15	27	11,53	6	4,19	6	7,59	35	15,76
Iguales	189	81,11	174	74,35	91	63,6	64	81,01	168	75,67
Total	233	100	234	100	143	100	79	100	222	100

Her-2: P=0,02

Cuando se correlacionó la variación de la expresión de los marcadores moleculares entre los componentes histológicos del tumor y el estado de los ganglios linfáticos axilares, se evidenció que entre 51 % a 85 % de los casos, la expresión permanece igual en ambos componentes del tumor, indistintamente de que exista o no metástasis regionales. Sin embargo, al valorar la intensidad se observó que existe pérdida de expresión mayor para el Bcl2 que para Her-2, en aquellos tumores que no presentaron enfermedad metastásica en la axila. Demostrándose solamente tendencia para RP (P=0,07).

En cuanto a la correlación de la expresión de los marcadores moleculares entre ambos componentes histológicos y la edad de la paciente, se aprecia que el inmunomarcaje para todos ellos se mantiene igual en ambos componentes del tumor, entre 50 % a 88 % de los casos, sin afectación aparente por la edad. Sin embargo, al discriminar en la intensidad se observó en el componente invasor del tumor que la ganancia en inmunomarcaje aumenta en pacientes mayores de 50 años, para el RE, RP, Bcl2 y p53, a diferencia

Cuadro 5. Relación entre la variación de la expresión de los marcadores moleculares (RE, RP, p53, Bcl2, Her-2) según el componente intraductal - ductal infiltrante y el tamaño tumoral en el carcinoma de mama

Marcador molecular	Componente intraductal/ductal infiltrante	Tamaño tumoral					
		< 2 cm		2 - 5 cm		> 5 cm	
		n	%	n	%	n	%
RE							
	Ganancia	1	3,33	5	7,04	-	-
	Pérdida	2	6,66	10	7,04	-	-
	Iguales	27	90,00	56	78,87	8	100
	Total	30	100	71	100	8	100
RP							
	Ganancia	4	11,11	11	15,49	1	12,50
	Pérdida	3	8,33	8	11,26	-	-
	Iguales	29	80,55	52	73,23	7	87,50
	Total	36	100	71	100	8	100
p53							
	Ganancia	8	40,00	17	43,58	3	75,00
	Pérdida	1	5,00	-	-	-	-
	Iguales	11	55,00	22	56,41	1	25,00
	Total	20	100	39	100	4	100
Bcl2							
	Ganancia	3	15,00	3	10,34	-	-
	Pérdida	5	25	2	6,89	-	-
	Iguales	12	60,00	24	82,75	1	100
	Total	20	100	29	100	1	100
Her-2							
	Ganancia	1	3,84	9	18,75	-	-
	Pérdida	4	15,38	9	18,75	-	-
	Iguales	21	80,76	30	62,50	3	100
	Total	26	100	48	100	3	100

p53: P=0,36
Her-2: P=0,15

de lo observado en menores de 50 años, donde los mismos receptores hormonales y el Her-2 se expresan con mayor pérdida, resultando la asociación entre ambas variables significativa para el RE (P=0,04).

DISCUSIÓN

El curso clínico de los pacientes con cáncer de mama es muy heterogéneo en relación a las alteraciones que implican su origen y desarrollo [11,13]. La incorporación de marcadores moleculares para la caracterización de estos tumores es útil para la evaluación clínica de los mismos, como también por ofrecer herramientas que puedan ayudar a comprender el proceso de la carcinogénesis [11,17,18,21,24,27].

En este estudio fue evidente que los marcadores moleculares más comúnmente realizados para el manejo de la neoplasia (RE, RP, p53, Bcl2 y Her-

Cuadro 6. Relación entre la variación de la expresión de los marcadores moleculares (RE, RP, p53, Bcl2, Her-2) según el grado del componente histológico en el carcinoma de mama

Marcador molecular	Componente intraductal/ductal infiltrante	Grado histológico					
		I		II		III	
		n	%	n	%	n	%
RE							
	Ganancia	1	9,09	3	3,65	1	5,00
	Pérdida	4	36,36	9	10,97	1	5,00
	Iguales	6	54,54	70	85,36	18	90,00
	Total	11	100	88	100	20	100
RP							
	Ganancia	2	20,00	8	9,63	4	21,05
	Pérdida	3	30,00	7	8,43	2	10,52
	Iguales	5	50,00	68	81,92	13	68,42
	Total	10	100	83	100	19	100
p53							
	Ganancia	6	50,00	17	35,41	4	36,36
	Pérdida	-	-	2	4,16	-	-
	Iguales	6	50,00	29	60,41	7	63,63
	Total	12	100	48	100	11	100
Bcl2							
	Ganancia	2	28,57	4	11,11	1	14,28
	Pérdida	-	-	6	16,66	1	14,28
	Iguales	5	71,42	26	72,22	5	71,42
	Total	7	100	36	100	7	100
Her-2/neu							
	Ganancia	1	3,48	8	10,25	3	15,78
	Pérdida	3	27,27	14	17,94	2	10,52
	Iguales	7	63,63	56	71,79	14	73,68
	Total	11	100	78	100	19	100

2) se expresan tanto en el componente intraductal como el infiltrante de los carcinomas de mama que presenta ambos tipos histológicos, aunque con diferencias en el inmunomarcaje.

La inmunotinción que fue característicamente más intensa en orden decreciente para p53, RP, RE y Bcl2 en el componente invasor, como el Her-2 en el intraductal, es un hallazgo que comparte similitudes y discrepancias con otros estudios [11,14,15,26,28-30].

Si bien las diferencias pueden ser debidas, entre los estudios a aspectos diversos como anticuerpos o metodologías, la variabilidad de criterios de positividad, el método de contaje, las diferencias en el procesamiento técnico (heterogeneidad en las condiciones de fijación y en las técnicas de desenmascaramiento antigénico) e incluso en el tiempo de almacenamiento de las preparaciones antes de realizar el estudio inmunohistoquímico. En este todas las muestras fueron procesadas de igual forma y los marcadores se determinaron en el mismo laboratorio bajo el mismo método y en un solo momento. El RE y RP que normalmente se expresa en las células epiteliales del ducto

mamario sin ningún tipo de alteración patológica, suelen encontrarse en el carcinoma intraductal y en el ductal infiltrante con grados de expresión variable como lo señalan algunos autores [11,25,26]. El hallazgo que tanto el RE como el RP se expresen en ambos componentes histológicos (intraductal e infiltrante) del mismo tumor, con un patrón que exhibe ganancia del inmunomarcaje en el componente invasor, representa un hallazgo hasta ahora no descrito en ningún otro estudio. La explicación a ese marcaje, muy probablemente es una condición en la evolución del grado de malignidad, relacionado con el grado histológico de cada componente presente en el mismo tumor (bajo grado en el intraductal vs., grado I-II en el ductal infiltrante), a lo que la literatura adiciona la negatividad de ambos receptores con presencia de lesiones de alto grado o mal diferenciadas [16,21]. Por otra parte, el comportamiento del tumor que expresa RE (-)/RP (-), RE(+)/RP(-) o RE(-)/RP(+) es bien conocido [14,16,19], sin embargo, el hallazgo de este estudio, pudiera inclusive distinguir a un subtipo diferente de lesión histológica dentro del carcinoma de mama, con un comportamiento que revisar.

La expresión de la proteína p53 y Her-2 como lo sugieren diversos artículos, es de innegable valor pronóstico tanto en carcinoma intraductal como infiltrante, asociado a la cinética celular y otras características morfológicas, entretanto pocos estudios mencionan los hallazgos de tumores que exhiben ambos tipos histológicos considerando estos y otros marcadores moleculares como el significado para la progresión del carcinoma de mama [15,19,31-33]. En este estudio, la inmunotinción de la proteína p53 con predominio de la ganancia sobre la pérdida en el inmunomarcaje desde el tipo histológico intraductal al infiltrante, como el comportamiento contrario observado respecto al Her-2, permite definir que la expresión de ambos marcadores que se modifica de uno a otro componente en esa dirección y de esta forma, se relaciona también con el grado de malignidad, y por lo tanto, estarían implicados en la evolución de lesiones biológicamente más agresivas, aumentando el potencial invasor de las células del ducto alteradas por los cambios neoplásicos, lo que refleja a la par de la adquisición de mutaciones del gen respectivo, la información de unos marcadores de valor pronóstico-predictivo también por el potencial para la progresión [15,27,28,31].

La expresión del Bcl2, que se comporta con una ganancia sutil en intensidad del inmunomarcaje hacia el componente infiltrante en relación con los otros, probablemente sea un inmunomarcador que inicia la aparición en relación inversa a la expresión de los anteriores p53 y Her-2, cuya connotación deba ser mejor soportada con igual número de todos los marcadores a la hora del análisis. Entretanto, otras publicaciones han documentado su expresión fuertemente asociada al tipo intraductal, RE negativo con una relación inversa de la proteína p53 y Her-2 [29-35]. Aunque la mayoría de los estudios apoyan el papel protector de Bcl-2 [29,33], también se ha asociado su expresión a la progresión en las metástasis del cáncer de mama [30,32,33]. Respecto a la variación de la expresión de los marcadores moleculares según el componente histológico y las otras variables del estudio, se evidenció en relación con el tamaño tumoral que la proteína p53, presentó un marcaje más intenso a mayor tamaño de la lesión, sin otro hallazgo en la literatura y explicación por el momento en este estudio. Asimismo, el inmunomarcaje del RE, Bcl2 y el Her-2 en relación al grado II-III, fue consistente con unos estudios previos [16,18,24,28,33], que sugiere que la expresión de varios destacados marcadores (p53, Her-2 Ki-67, ER, PR, y Bcl2) se correlacionan muy bien con el grado del tumor. Ante la evidencia de predominio del bajo grado en el carcinoma intraductal (BGSN y BGCN) y grado I-II en la contraparte ductal infiltrante podríamos señalar que las lesiones malignas no invasoras de un determinado grado evolucionan muy probablemente a una invasora de grado similar, lo que comparte similitud con otros artículos en la literatura [21,31,32].

Esto permitiría también apuntar, que la célula que inicialmente se transforma por las alteraciones genéticas determina el fenotipo tumoral y la secuencia genética de eventos a seguir, sin dejar de lado la propuesta que otras alteraciones también pueden ocurrir luego del evento inicial en la transformación neoplásica y en el camino de la agresividad biológica del carcinoma de mama con su subsecuente expresión molecular también variable durante cada etapa de transformación. La asociación de la variación de la expresión de los marcadores según el componente histológico y la edad desde el carcinoma no invasor a invasor fue significativa para el RE (P=0,04). Es bien conocido desde hace un tiempo, que el marcaje de los receptores hormonales, en el carcinoma infiltrante en la población posmenopáusica comparada con la premenopáusica es más frecuente, aunque la expresión simultánea de otros marcadores como Bcl2, p53 y otros más, es algunas veces contradictorio, lo interesante probablemente está en observar el marcaje cambiante en relación con los años tanto en el componente no invasor y su contrapartida histológica, en tumores que los exhiban.

Igualmente, la correlación de la variación en la expresión de los marcadores del estudio con las otras variables, como el estadio clínico y el estado nodal de la axila, no produjo resultados significativos.

Como conclusión: la identificación de la expresión proteica en la glándula mamaria que sufre la transformación neoplásica, tiene gran peso por la información adicional para la clasificación actualmente dada a conocer, en este estudio se muestra la variación del inmunomarcaje del RE, RP, p53, y Her-2 entre el carcinoma intraductal e infiltrante colindando en el mismo tumor y algunos cambios de la expresión del grado de malignidad.

El incremento en la expresión de receptores hormonales, la alteración de la proteína p53 y la expresión Her-2, en el carcinoma de mama con estos componentes histológicos, permiten discriminar pasos implicados en el proceso de la carcinogénesis mamaria. Indudablemente, existe otros elementos implicados en los mecanismos de la carcinogénesis que debemos determinar, y lo que impone el desarrollo de un diseño, que incluya una serie de mayor número, que permita comparar incluso otras variables morfológicas y otros biomarcadores con el fin de establecer el verdadero significado de la expresión de los mismos en el camino completo de la progresión tumoral de esta neoplasia. La importancia está por tanto, en la posibilidad de estratificar a las pacientes en distintos grupos de acuerdo a resultados más categóricos de los cambios en la expresión de dichos marcadores moleculares entre uno y otro componente en estos tumores.

Los alcances de estos hallazgos, o su utilidad en la toma de decisiones terapéuticas, son interrogantes que otras investigaciones y el tiempo probablemente puedan responder.

REFERENCIAS

1. Smigal C, Jemal A, Ward E, Cokkinides V, Smith R, Howe HL, et al. Trends in breast cancer by race and ethnicity: Update 2006. CA Cancer J Clin. 2006;56(3):168-183.
2. Anderson BO. Situación de la salud mamaria en el mundo y en Latinoamérica en particular. Rev Med Clin Condes. 2006;17(4):137-141.
3. Phillips AA, Jabcoson JS, Magai C, Consedine N, Horowicz-Meller NC, Neugut AI. Cancer incidence and mortality in the Caribbean. Cancer Invest.

2007;25(6):476-483.

4. Porter P. "Westernizing" women´s risk? Breast cancer in lower-income countries. N Engl J Med. 2008;358(3):4.
5. The global burden of diseases 2004. Update. Geneva: World Health Organization, 2008. Disponible en: URL: http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/estimates_regional/en/index.html.
6. Anderson BO y Cazap E. Breast Health Global Initiative (BHGI) planeamiento para el desarrollo de programas en América Latina. Salud Pub Méx. 2009;1(Supl 2):309-315.
7. Cifras de cáncer en España 2009. Disponible en: URL:http://www.redaccionmedica.com/redaccion/cancer_cifras_seom.pdf.
8. ErbaS B, Amos A, Fletcher A, Kavanagh AM, Gertig DM. Incidence of invasive breast cancer and ductal carcinoma in situ in a screening program by age: Should older women continue screening? Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2004;13(10):1569-1573.
9. Luke C, Priest K, Roder D. Changes in incidence of in situ and invasive breast cancer by histology type following mammography screening. Asian Pac J Cancer Prev. 2006;7(1):69-74.
10. Gómez Rodríguez A. Cáncer de mama. 2002. Disponible: en: URL: http://www.sovepem.org.ve/paginas/infalmédico/html.
11. Van De Vijver, MJ. Modelo multi-etapa de las alteraciones genéticas que conducen al carcinoma de mama. Rev Esp Patol.1999;32(3):301.
12. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists consensus statement 1999. Arch Pathol Lab Med. 2000;124(7):966-978.
13. Leal CB, Schmitt FC, Bento MJ, Maia NC, Lopes CS. Ductal carcinoma in situ of the breast. Histological categorization and its relationship to ploidy and immunohistochemical expression of hormone receptors, p53, and c-erbB-2 protein. Cancer. 1995;75(8):2123-2131.
14. Poller DN, Roberts EC, Bell JA, Elston CW, Blamey RW, Ellis IO. p53 protein expression in mammary ductal carcinoma in situ: Relationship to immunohistochemical expression of estrogen receptor and c-erbB-2 protein. Hum Pathol. 1993;24(5):463-468.
15. Pinder SE, Ellis IO, Elston CW. Prognostic factors in primary breast carcinoma. J Clin Pathol. 1995;48(11):981-983.
16. Warnberg F, Nordgren H, Bergkvist L, Holmberg L. Tumor markers in breast carcinoma correlate with grade rather than with invasiveness. Br J Cancer. 2001;85(6):869-874.
17. Colozza M, Cardoso F, Sotiriou C, Larsimont D, Piccart MJ. Bringing molecular prognosis and prediction to the clinic. Clin Breast Cancer. 2005;6(1):61-76.
18. Subramaniam DS, Isaacs C. Utilizing prognostic and predictive factors in breast cancer. Curr Treat Options Oncol. 2005;6(2):147-159.
19. Simpson PT, Reis-Filho JS, Gale T, Lakhani SR. Molecular evolution of breast cancer. J Pathol. 2005;205(2):248-254.
20. Perou CM, Jeffrey SS, Van De Rijn M, Rees CA, Eisen MB, Ross DT, et al. Distinctive gene expression patterns in human mammary epithelial cells and breast cancers. Proc Natl Acad Sci USA. 1999;96(16):9212-9217.
21. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, Van De Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumors. Nature. 2000;406(6797):747-752.
22. Callagy G, Cattaneo E, Daigo Y, Happerfield L, Bobrow LG, Pharoah PD, et al. Molecular classification of breast carcinomas using tissue microarrays. Diagn Mol Pathol. 2003;12(1):27-34.
23. Eden P, Ritz C, Rose C, Fernon M, Peterson C. "Good old" clinical markers have similar power in breast cancer prognosis as microarray gene expression profilers. Eur J Cancer. 2004; 40(12):1837-1841.
24. Carey L, Perou C, Livasy C, Dressler L, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina breast cancer study. JAMA. 2006;295(21):2492-2502.
25. Parada D. Biología molecular en el cáncer de mama. Rev Venez Oncol. 2004;16(2):30-34.
26. Leal CB, Schmitt FC, Bento MJ, Maia NC, Lopes CS. Ductal carcinoma in situ of the breast. Histologic categorization and its relationship to ploidy and immunohistochemical expression of hormone receptors, p53, and c-erbB-2 protein. Cancer. 1995;75(8):2123-2131.
27. Wärnberg F, Nordgren H, Bergkvist L, Holmberg L. Tumor markers in breast carcinoma correlate with grade rather than with invasiveness. Br J Cancer. 2001;14;85(6):869-874.
28. ylonas I, Makovistzky J, Jeschke U, Briese V, Friese K, Gerber B. Expression of Her2/neu, steroid receptors (ER and PR), Ki67 and p53 in invasive mammary ductal carcinoma associated with ductal carcinoma

in situ (DCIS) versus invasive breast cancer alone. Anticancer Res. 2005; 25(3):1719-1723.

29. Thomadaki H, Talieri M, Scorilas A. Prognostic value of the apoptosis related genes BCL2 and BCL2L12 in breast cancer. Cancer Lett. 2007;247(1):48-55.

30. Bertheau P, Turpin E, Rickman DS, Espié M, de Reyniès A, Feugeas JP, et al. Exquisite sensitivity of TP53 mutant and basal breast cancers to a dose-dense epirubicin-cyclophosphamide regimen. PLoS Med. 2007;4(3):90.

31. Suárez CM, Maisi S, Parada D, Briñez AM, Navas H, Gómez A, et al. Inmunohistoquímica y carcinoma mamario in situ. Rev Venez Oncol. 2002;14(2):76-86.

32. Megha T, Ferrari F, Benvenuto A, Bellan C, Lalinga A, Lazzi S, et al. p53 mutation in breast cancer: Correlation with cell kinetics and cell of origin. J Clinical Pathol. 2002;55(6):461-466.

33. Planas-Silva MD, Bruggeman RD, Grenko RT, Smith JS. Overexpression of c-Myc and Bcl-2 during progression and distant metastasis of hormone-treated breast cancer. Exp Mol Pathol. 2007;82(1):85-90.