

Marcadores tumorales celulares como factores pronósticos en pacientes con cáncer de mama sin afectación axilar

P. Santesteban,
I. Pericás

SUMMARY

The cellular tumoral factors RE, RP, cathepsine-D and pS2 are proteins present in the cell cytoplasm of mammary gland malignant tumors. Its overexpression has recognized value when doing the prognosis of the patient. 178 women undergoing such disease were studied, 67 of which had small size tumours with low mitotic activity and histologic grade I. They did not show any axillary methastatic lymph nodes. The total cathepsine-D in these patients did not have any statistic relation with the other tumoral factors studied.

Cases of faster evolution can be related to patients with high cathepsine-D rate.

Instituto Oncológico de Gipuzkoa.

Correspondencia:
P. Santesteban.
Servicio de Medicina Nuclear.
Aldako-enea, 44.
Instituto Oncológico de Gipuzkoa.
20012 San Sebastián.

Palabras clave

RE, RP, Catepsina-D total, pS2, Cáncer de mama.

Key words

ER, PR, Total cathepsine-D, pS2, Breast cancer.

INTRODUCCION

El cáncer de mama es actualmente la enfermedad maligna más común en las mujeres, pero con las sofisticadas técnicas actuales de imagen cada vez se diagnostican en estadios más primitivos, es decir, en un número alto de casos, en estado de nódulos axilares negativos (N-). Hay evidencia de que la terapia endocrina y la quimioterapia adyuvantes pueden beneficiar a ciertas pacientes de estas características.¹ Un 70% de los N- sólo con tratamiento quirúrgico y

radioterapia presentan largos períodos de supervivencia, pero el 30% restante está predestinado a un empeoramiento de la enfermedad,² por lo que se hace necesario disponer de los parámetros suficientes para poder identificar a los de alto y bajo riesgo.

Son conocidos diversidad de factores pronósticos en la patología maligna de la mama, unos anatómicos como la edad, el tamaño tumoral, el estado de la menopausia, tipo histológico, etc., y otros que se pueden denominar factores pronóstico biológicos, que en los últimos años se ha podido demostrar su gran influencia sobre el curso clínico de la enfermedad. Entre estos últimos se encuentran los receptores esteroideos (RE y RP), la chatepsina-D y el pS2, moléculas existentes en el citoplasma de la célula tumoral de las que se han descrito sus implicaciones

Este trabajo ha contado en su realización con una Ayuda a la Investigación Sanitaria concedida por el Departamento de Sanidad del Gobierno Vasco.

en los procesos de proliferación y diseminación celular.

La presencia de RE está asociada con varias situaciones histológicas y celulares que sugieren un buen pronóstico de la enfermedad.³ Hay controversia en las mujeres N- de si el estado de los RE/RP predice la recurrencia a la enfermedad, pero existen algunos trabajos y experiencias que afirman que la positividad de RE y RP está correlacionada con un mejor intervalo libre de enfermedad (ILE) y una mayor supervivencia global (SG).⁴ El mayor valor de los receptores es predecir el máximo beneficio de la hormonoterapia adyuvante.⁵

La cathepsina-D es una proteasa ácida lisosomal con dos actividades biológicas muy concretas, una mitogénica sobre las células dependientes de estrógenos y una proteolítica sobre varios substratos, incluyendo la membrana basal, por lo que tiene un gran protagonismo en la carcinogénesis.^{6,7} En diversidad de publicaciones está descrito que añade una buena información pronóstica en las pacientes N-, ya que las que expresan elevados niveles presentan períodos más cortos de supervivencia.⁸ Por tanto su utilidad estaría en la selección de las de probable mala evolución.

El pS2 también es una proteína citoplasmática de pequeño tamaño, de la que no se conoce todavía su función está directamente relacionada con los estrógenos y de ella está descrito repetitivamente que su sobreexpresión celular implica un buen pronóstico de la enfermedad.⁹ Se considera un buen marcador de la respuesta a la hormonoterapia.¹⁰

Nosotros hemos intentado en este trabajo estudiar estos factores que llamaremos marcadores tumorales celulares (MTC) en una población de mujeres con cáncer de mama sin afectación axilar diagnosticadas en nuestro hospital, junto con los factores pronósticos tradicionales, con el fin de poder identificar con más seguridad las que se beneficiarían de una terapia complementaria.

MATERIAL Y METODOS

Pacientes. Se seleccionaron 178 mujeres con cáncer de mama, de las que 67 no tenían afectados los ganglios axilares, diagnosticadas en nuestro hospital entre enero de 1991 y febrero de 1993, tratadas quirúrgicamente, sin metástasis a distancia y sin otra tumoración maligna.

Obtención de las muestras. La pieza tumoral procedente de quirófano se depositó en N₂ líquido (-196° C) hasta el momento de su utilización en que se aisló el citosol del homogenado de la pieza mediante una ultracentrifugación a 100.000 g durante 60 minutos.

Determinación de receptores esteroideos. Se determinaron en citosol los receptores del estradiol (RE) y los de progesterona (RP) por un radioreceptor-ensayo (RRE) con la técnica de carbón dextrano.¹¹ El resultado se calculó mediante la utilización de una curva de Scatchard Plot.¹²

Determinación de cathepsina-D y pS2. Se determinaron las 2 proteínas también en el citosol de los homogenados tumorales mediante la técnica inmunoradiométrica (IRMA) que se apoya en el principio del «sandwich» en fase sólida en la que se utilizan 2 anticuerpos monoclonales. Los reactivos utilizados han sido los kits comercializados por el laboratorio Cis Bio Internacional (CIS España) denominados Elsa-Cath-D y Elsa-PS2TM, respectivamente, conteniendo los anticuerpos monoclonales D7E3/M1G8 para la determinación de cathepsina-D y BC6/BC4 para la de pS2. Los cálculos se realizaron mediante el ajuste de una función Spline.¹³

Puntos de corte (cut-off). Se prefijaron en 10 y 5 femtomoles para los receptores de estrógeno y progesterona, respectivamente, y en 60 picomoles y 2 nanogramos para la cathepsina y pS2, todos ellos por miligramo de proteína de citosol determinada por la técnica de Lowry.¹⁴

Estadística. Se aplicó el test de Chi-cuadrado para el análisis de proporciones.

RESULTADOS

1. *Relación del estado de la axila con los parámetros clínico-patológicos.* Se estudia en la población total la relación que existe entre el estado ganglionar y los parámetros clinicopatológicos, así en la tabla I nos encontramos que estadísticamente las N- presentan en mayor proporción tumores de pequeños tamaño y de un menor índice proliferativo, es decir, baja actividad mitótica ($p=0,030$) y bajo grado histológico ($p=0,006$).
2. *Relación de estado de la axila con los MTC.* Ya que el interés primordial de este trabajo es encontrar factores con **importancia** en el conocimiento

TABLA I
CARACTERISTICAS ANATOMOPATOLOGICAS DE LA POBLACION RESPECTO AL ESTADO DE LA AFECTACION AXILAR

	N.º	N- (%)	N+ (%)	P
Edad (años):				
— 0-40	20	35	65	NS
— 40-50	45	47	70	
— > 50	110	36	64	
Menopausia				
— Premenopausia ..	63	46	54	NS
— Postmenopausia .	111	33	67	
Tamaño tumoral				
— T1	38	63	37	0,0003*
— T2	88	38	63	
— T3	50	20	80	
Índice mitótico:				
— 0-5	60	44	52	0,030*
— 5-10	40	23	78	
— > 10	89	36	64	
Grado histológico:				
— GI	17	71	29	0,006*
— GII	104	35	65	
— GIII	37	27	73	
Tipo histológico:				
— Ca. ductal	157	38	62	NS
— Ca. lobulillar	12	33	67	

N.º: Número de pacientes. N: Estado de axila. P: Probabilidad. * p<0,05. NS: No significativo.

del pronóstico de las enfermas sin afectación axilar, hemos estudiado la relación que existe entre el estado ganglionar y los marcadores tumorales. En la tabla II se observa que no se encuentra ninguna asociación estadística entre ellos.

3. *Interrelación de los MTC en la población de mujeres sin afectación axilar.* En un estudio similar observamos que en pacientes sin ganglios axilares afectados la cathepsina-D es independiente de los otros 3 marcadores tumorales celulares estudiados, mientras que el pS2 está directamente relacionado con los 2 receptores esteroideos: p=0,06 y p=0,34 (tabla III).

DISCUSION

La finalidad de realizar este trabajo ha sido evaluar los marcadores tumorales celulares RE, RP, cathepsina-D y pS2 como factores pronóstico en mujeres

TABLA II
CARACTERISTICAS DE LOS MARCADORES TUMORALES CELULARES DE LA POBLACION RESPECTO AL ESTADO DE LA AFECTACION AXILAR

	N.º	N- (%)	N+ (%)	P
RE+	59	36	64	NS
RE-	114	39	61	
RP+	64	44	56	NS
RP-	113	35	65	
Cathepsina-D+	40	40	60	NS
Cathepsina-D-	135	38	62	
pS2+	99	38	62	NS
pS2-	68	40	60	

N.º: Número de pacientes. N: Estado de la axila. P: Probabilidad. NS: No significativo.

con carcinoma de mama y especialmente en las que no tuvieran afectada la cadena ganglionar axilar para poder precisar las que serán candidatas a una terapia adyuvante.

Las mujeres que estaban libres de ganglios metastásicos axilares (N-) se corresponden con las de tumores más pequeños, con menor actividad mitótica y más bajo grado histológico. El tamaño tumoral en un tumor primario parece que está estrechamente relacionado con su velocidad de crecimiento y, por tanto, con su índice proliferativo y capacidad de metastatizar, lo que reafirmaría nuestros resultados y los de Donnegan (1992)¹⁵ que demostró la linealidad existente entre la T y la frecuencia de nódulos axilares metastásicos.

TABLA III
INTERRELACION DE LOS MARCADORES TUMORALES CELULARES EN MUJERES N-

	Cathepsina-D			pS2			P
	N.º	- (%)	+ (%)	N.º	- (%)	+ (%)	
RE- ...	21	81	19	19	84	16	0,006*
RE+ ...	44	73	27	44	48	52	
RP- ...	28	86	14	28	71	29	0,034*
RP+ ...	34	68	32	39	46	54	
pS2- .	38	82	18				NS
pS2+ .	29	69	31				

N.º: Número de pacientes. N: Estado de la axila. P: Probabilidad. * p<0,05. NS: No significativo.

Por otro lado este grupo de pacientes no expresan los marcadores tumorales estudiados de manera diferente a las que tienen la axila positiva.

Podemos afirmar que en las mujeres N- el pS2 está estrechamente relacionado con los receptores esteroideos de acuerdo con Núñez et al. en 1987,⁹ que ya lo describieron como una pequeña proteína cuya secreción era dependiente de la estimulación de estrógenos a sus receptores específicos.

La cathepsina-D, por el contrario, no guarda ningún tipo de relación con los otros 3 marcadores, lo que determinaría su interés como parámetro de valor pronóstico en este tipo de pacientes. Esto apoyaría los resultados que obtuvieron, en un análisis multivariante, Tandon et al. en 1990, estudiando la forma madura de la cathepsina-D (34 kd) junto con una amplia batería de parámetros considerados de valor pronóstico en carcinoma de mama concluyeron que la cathepsina-D se puede considerar un factor pronóstico independiente, de recidiva temprana y fallecimiento en el cáncer de mama con ganglios negativos.¹⁶

Haciendo un pequeño resumen de nuestros resultados parece ser que en las enfermas de cáncer de mama sin afectación axilar sólo tienen valor pronóstico los receptores estrogénicos y la cathepsina-D total, cuyas expresiones dan informaciones contrarias en la presunta evolución.

RESUMEN

Los marcadores tumorales celulares RE, RP, cathepsina-D y pS2 son proteínas presentes en el citoplasma de las células de tumores malignos de mama. Su sobreexpresión tiene un valor reconocido a la hora de dictaminar el pronóstico de la paciente. Se han estudiado en 178 mujeres afectas de esta enfermedad, siendo 67 las que no tenían ganglios axilares metastásicos, encontrándose que estas últimas presentaban tumores de pequeño tamaño, con baja actividad mitótica y menor grado histológico, y que la cathepsina-D total en ellas no guarda ninguna asociación estadística con el estado de los otros 3 marcadores tumorales celulares estudiados.

Las pacientes de mala evolución podrían corresponder a las pacientes con alta tasa de cathepsina-D.

REFERENCIAS

1. Fisher B, Constantino J et al. A randomized clinical trial evaluating tamoxifen in the treatment of patients with node-negative breast cancer who have estrogen-receptor-positive tumors. *N Engl J Med* 1989; 320: 479-484.
2. Fisher ER, Sass R, Fisher B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Project for Breast Cancers. Protocol n.º 4. *Cancer* 1984; 53: 712-723.
3. Fisher ER, Sass R, Fisher B and collaborating NSABP investigators. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project: Correlations with concordant and discordant estrogen and progesterone receptors. *Cancer* 1987; 59: 1554-1559.
4. Shek LI, Godolphin W. Survival with breast cancer: The importance of estrogen receptor quantity. *Eur J Cancer* 1989; 25: 243-250.
5. Bezwoda WR, Esser JD et al. The value of estrogen and progesterone receptor determinations in advanced breast cancer. *Cancer* 1991; 68: 867-872.
6. Wesley B, Rochefort H. A secreted glycoprotein induced by estrogen in human breast cancer cell lines. *Cell* 1980; 20: 352-362.
7. Briozzo P, Morisset M, Capony F, Rougeot C, Rochefort H. *In vitro* degradation of extra cellular matrix with Mr 52,000 cathepsin-D secreted by breast cancer cells. *Cancer Res* 1988; 48: 3688-3692.
8. Spyrtos F, Brouillet JP et al. Cathepsin D: An independent prognostic factor for metastasis of breast cancer. *Lancet* 1989; ii: 1115-1118.
9. Núñez AM, Jakowley S et al. Characterization of the estrogen-induced pS2 protein secreted by the human breast cancer cell line MCF-7. *Endocrinology* 1987; 121: 1759-1765.
10. Swartz LH, Koerner FC et al. pS2 expression and response to hormonal therapy in patients with advanced breast cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 624-628.
11. Ekins RP, Newman GB, O'Riordan JLH. Theoretical aspects of saturation and radioimmunoassay. *Radioisotopes in medicine in vitro studies*, edited by RL Hayes, BEP Murphy and FA Koswitz (VS Atomic Energy Commission, Oak Ridge, Tenn, 1968).
12. Formento JL, Francoual M et al. Epidermal growth factor receptor assay: Validation of a single point method and application to breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* 1990; 17: 211-219.
13. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
14. Numura Y, Miura S et al. Relative effect of steroid hormone receptors on the prognosis of patients with operable breast cancer. *Cancer* 1992; 69: 153-164.
15. Donegan WL. Prognostic factors. *Cancer* 1992; 70: 1755-1764.
16. Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, Chirgwin JM, McGuire WL. Cathepsin-D and prognosis in breast cancer. *N Engl J Med* 1990; 322: 297-302.