

Uso de marcadores moleculares para la predicción de la metástasis axilar en cánceres de mama con diámetro igual o inferior a 1 cm (pT1a,b)

A. Tejerina-Gómez, R. Lucas, J. Sánchez, A. Tejerina-Bernal, J. Schneider¹

Fundación Tejerina-Centro de Patología de la Mama. ¹Universidad Rey Juan Carlos. Madrid

RESUMEN

La tasa de invasión ganglionar axilar que presentan los cánceres de mama de diámetro igual o inferior a 1 cm es baja, pero no despreciable. Ello obliga a la realización sistemática del estudio de la axila, ya sea mediante linfadenectomía clásica, o la técnica del ganglio centinela. Si fuéramos capaces de predecir la metastatización axilar con un grado de fiabilidad aceptable (superior al 95%), podríamos restringir la ampliación de la cirugía a aquellas pacientes que verdaderamente se benefician de ella, y limitarnos a la extirpación del tumor en el 80-90% restante.

Hemos estudiado 145 cánceres invasores de mama unifocales con diámetro igual o inferior a 1 cm (pT1a,b) operados en nuestro centro. En todos los casos fue practicada linfadenectomía axilar completa o, más recientemente, estudio del ganglio centinela (28/145 casos). Un total de 20 pacientes (13,8%) presentaron metástasis en los ganglios axilares (rango: 1-23 ganglios afectados). Además de los parámetros histológicos clásicos, en todos los casos se determinó mediante inmunohistoquímica la expresión de receptores hormonales (RE y RP), el marcador de proliferación Ki67, el oncogén c-erb-B2 y el gen oncosupresor mutado p53. También mediante inmunohistoquímica, se valoró la expresión de CD44std en 69 casos, cuya ausencia se asocia con la metastatización axilar, y de complejos uPA-PAI en 54 casos, cuya presencia en cánceres con receptores de progesterona se asocia igualmente con la invasión de los ganglios axilares en tumores T1.

De todas las variables estudiadas, las únicas que se correlacionaron de manera estadísticamente significativa y directa con la invasión ganglionar de la axila fueron un índice de proliferación Ki67 superior al 10% ($r = 0,18$, $p = 0,034$) y la ausencia de expresión de CD44std ($r = 0,28$; $p = 0,022$). De manera significativa e inversa se correlacionaron con las metástasis ganglionares de la axila el grado histológico 1 ($r = -0,18$; $p = 0,041$) y el grado nuclear 1 ($r = -0,18$; $p = 0,036$).

Recibido: 01-01-07.

Aceptado: 14-02-07.

Correspondencia: J. Schneider. Fundación Tejerina. C/ José Abascal, 40. 28003 Madrid. email: jose.schneider@urjc.es

Estos datos parecen indicar que células tumorales altamente proliferativas, y además capaces de desanclarse de sus vecinas, son aquellas que inician el proceso de metastatización axilar en el cáncer de mama ya desde sus estadios más precoces. Recíprocamente, tumores de 1 cm de diámetro o menos, bien diferenciados, prácticamente nunca presentan metástasis axilares.

Palabras clave: Cáncer. Mama. 1 cm. Ganglios. Axila. Metástasis.

ABSTRACT

The axillary nodal invasion rate of breast cancers with a diameter of 1 cm or less is low, but not negligible. Therefore it is mandatory to study the axilla systematically, either by means of a classical lymphadenectomy or the sentinel node technique. If we were able to predict axillary metastases with an acceptable degree of certainty (above 95%), we could restrict the extended surgery to those patients really benefiting from it, and limit it to the tumor excision alone in the remaining 80-90%.

We have studied 145 unifocal invasive breast cancers with a diameter of 1 cm or less (pT1a,b) operated upon at our center. In all cases we performed a complete axillary dissection, or in more recent times a sentinel node study (28/145 cases). A total of 20 patients (13.8%) showed metastasis in the axillary nodes (range; 1-23 affected nodes). In addition to classical histological parameters, in all cases we determined by means of immunohistochemistry the expression of hormone receptors (ER & PR), the Ki67 proliferation marker, the c-erb-B2 oncogene and the mutant p53 tumor suppressor gene. Also by means of immunohistochemistry we evaluated the expression of CD44std in 69 cases, the absence of which is associated with axillary metastasis, and of uPA-PAI complexes in 54 cases, the presence of which in cancers expressing progesterone receptors is equally associated with axillary nodal invasion in T1 tumors.

Of all studied variables, the only ones correlating in a statistically significant way with axillary nodal invasion were a Ki67 proliferation index above 10% ($r = 0.18$, $p = 0.034$) and the absence of expression of CD44std ($r = 0.28$; $p = 0.022$).

Histologic grade 1 ($r = -0.18$; $p = 0.041$) and nuclear grade 1 ($r = -0.18$; $p = 0.036$) correlated inversely in a significant way with axillary metastasis.

These data seem to indicate that highly proliferating tumor cells, which are additionally capable of detaching themselves from their neighbors, are the ones initiating the axillary metastatic process in breast cancer already at its earliest stages. Reciprocally, well differentiated tumors of 1 cm or less almost never show axillary metastases.

Key words: Cancer. Breast. 1 cm. Nodes. Axilla. Metastasis.

INTRODUCCIÓN

Ha pasado ya una década desde que Cady (1) predijo el advenimiento de una “nueva era del cáncer de mama”, caracterizada por el acceso masivo de las mujeres a las campañas de *screening* y el empleo de medios técnicos cada vez más sofisticados, que iban a permitir el diagnóstico en fases más tempranas de la enfermedad. Efectivamente, dichas predicciones ya se han cumplido, y la proporción de tumores diagnosticados en estadios precoces de nuestras series crece de año en año. Actualmente, uno de cada tres cánceres de mama T1 operados en centros de referencia mide 1 cm o menos de diámetro, algo impensable hasta épocas relativamente recientes. Ello nos ha hecho replantearnos de forma radical el tipo de cirugía empleado en su tratamiento, en especial en lo que concierne al estudio de los ganglios axilares. Incluso una vez plenamente consolidado el uso de la técnica del ganglio centinela, con su baja morbilidad intrínseca, cabe plantearse la posibilidad de ser aún más conservador, si cabe, e intentar prescindir en un futuro del todo de la cirugía axilar, habida cuenta que la inmensa mayoría de los tumores T1a,b, que es de los que nos estamos ocupando, no metastatizan a los ganglios regionales. Para ello, deberíamos ser capaces de predecir qué cánceres de mama con un diámetro igual o inferior a 1 cm tienen una posibilidad estadística inferior al 5% de presentar invasión ganglionar axilar. Este límite estadístico del 5% es el internacionalmente admitido como aceptable para cualquier técnica predictiva, y de hecho es, p. ej. la tasa de falsos negativos que se considera deseable para la validación de la técnica del ganglio centinela (aunque, en la realidad, esta se acerca más al 8%, considerándose esta cifra, no obstante, válida en grandes estudios multicéntricos) (2,3).

En el presente trabajo, hemos analizado retrospectivamente nuestra serie de cánceres de mama unifocales T1a,b desde la introducción rutinaria en el estudio patológico de nuestro centro de marcadores pronósticos moleculares, en un intento por identificar un patrón que permita predecir con una fiabilidad superior al 95% la ausencia de invasión ganglionar axilar.

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre enero de 1993 y junio de 2006 fueron operados en nuestro centro 479 carcinomas invasores unifocales de mama, con un diámetro en la pieza histológica igual o inferior a 2 cm (pT1). De ellos, 145 (30,3%) presentaron un diámetro igual o inferior a 1 cm (pT1a,b). En todos los casos fue practicada linfadenectomía axilar completa o, más recientemente, estudio del ganglio centinela (28/145 casos). Un total de 20 pacientes (13,8%) presentaron metástasis en los ganglios axilares (rango: 1-23 ganglios afectados). La mayoría (13 casos) tenía tan sólo un ganglio afectado, dos pacientes presentaban metástasis en 2 ganglios, y los restantes casos fueron hallazgos únicos de afectación en 4, 8, 9, 17 y 23 ganglios, respectivamente.

En cuanto a las variedades histológicas, se trató mayoritariamente de carcinomas ductales infiltrantes NOS (115 casos, 79,3%), seguido de carcinomas tubulares puros (17 casos, 11,7%) y carcinomas lobulillares (13 casos, 9,0%).

Como parte de la rutina anatomopatológica, en todos los casos se determinó mediante inmunohistoquímica la expresión de receptores hormonales (RE y RP), el marcador de proliferación Ki67, el oncogén c-erb-B2 y el gen oncosupresor mutado p53. Al ser la proteína p53 mutada más estable que la salvaje, se puede asegurar que existen mutaciones en el gen cuando más del 10% de los núcleos presentan tinción específica, según nosotros mismos pudimos demostrar en un trabajo anterior (4), confirmado con posterioridad por Schmitt y cols. (5). Se consideraron los tumores positivos para receptores hormonales y c-erb-B2, respectivamente, cuando más del 10% de las células tumorales presentaron tinción específica, y el índice de positividad para Ki67 se expresó directamente como el porcentaje de células reactivas. La técnica inmunohistoquímica, anticuerpos utilizados y condiciones empleadas han sido descritas con todo detalle en publicaciones anteriores de nuestro grupo (6,7).

También mediante inmunohistoquímica, se valoró la expresión de CD44std en 69 casos, cuya ausencia se asocia con la metastatización axilar según un estudio previo nuestro (6) y de complejos uPA-PAI en 54 casos, cuya presencia en tumores con receptores de progesterona se asocia igualmente con la invasión de los ganglios axilares en tumores T1, según pudimos demostrar por primera vez en un estudio anterior (8). En ambos casos se estableció el punto de corte para la positividad en más del 10% de células tumorales inmunorreactivas.

Las restantes variables que entraron en el análisis estadístico final fueron el tamaño tumoral, así como el grado histológico y nuclear. Para dicho análisis se utilizó el paquete informático *GraphPad Prism biomedical statistical package* (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, EE.UU.). La correlación entre las diferentes variables se estudió mediante el test de Spearman. En el caso de variables continuas (p. ej. caso de Ki67), se procedió previamente a una dicotomización a partir de un punto de

corte. Dichos puntos de corte están explicitados en la tabla I.

Tabla I. Correlación de la invasión ganglionar axilar con el resto de variables estudiadas en 145 carcinomas infiltrantes de mama de diámetro igual o inferior a 10 mm (pT1a,b)

Variable	r	p
Tamaño < 5 mm	-0,14	0,09
Histología tubular	-0,15	0,08
GH1	-0,18	0,041 (*)
GN1	-0,18	0,036 (*)
GH3	0,07	0,43
GN3	0,05	0,56
c-erb-B2	0,09	0,30
p53	0,06	0,49
Ki67 > 10%	0,18	0,034 (*)
RE	-0,09	0,24
RP	-0,12	0,17
CD44std > 10%	-0,28	0,022 (*)
uPA-PAI > 10%	0,12	0,39

(*) = valores estadísticamente significativos.

RESULTADOS

De todas las variables estudiadas, las únicas que se correlacionaron de manera estadísticamente significativa y directa con la invasión ganglionar de la axila fueron un índice de proliferación Ki67 superior al 10% ($r = 0,18$, $p = 0,034$) y la ausencia de expresión de CD44std (a pesar del relativamente bajo número de casos estudiado) ($r = 0,28$; $p = 0,022$). De manera significativa e inversa se correlacionaron con las metástasis ganglionares de la axila el grado histológico 1 ($r = -0,18$; $p = 0,041$) y el grado nuclear 1 ($r = -0,18$; $p = 0,036$). A pesar de que ninguno de los 17 carcinomas tubulares se asoció con ganglios positivos, el pequeño tamaño muestral hizo que este hecho no alcanzara la significación estadística ($r = -0,15$; $p = 0,08$). Lo mismo vale decir para los 16 tumores T1a, de 5 mm o menos de diámetro, ninguno de los cuales presentó metástasis axilares ($r = -0,14$; $p = 0,09$). Todos los resultados se hallan resumidos en la tabla I.

DISCUSIÓN

En un estudio anterior (6) realizado por nosotros sobre el grupo completo de tumores pT1, incluyendo los pT1c, de diámetro superior al centímetro hasta un máximo de 2 cm, el modelo univariable de aproximación identificó como factores predictivos de invasión ganglionar axilar el grado histológico 3, un índice de Ki67 superior al 10% y la no expresión de CD44std. En el modelo multivariable

posterior, sólo retuvieron su capacidad predictiva el grado histológico 3 y la expresión de CD44std. En el estudio actual, el análisis univariable es muy similar al del trabajo previo referido, con la única excepción de que el grado histológico 3 no tiene ningún valor predictivo en los tumores de hasta 1 cm de diámetro. Este hallazgo es muy interesante, y parece indicar que la preeminencia estadística alcanzada en el primer estudio por el grado histológico avanzado era a expensas de los tumores de mayor tamaño (pT1c). En los tumores pT1a y pT1b es el grado histológico 1 el que tiene valor pronóstico, ya que, junto con el grado nuclear 1, se asocia inversamente con la invasión ganglionar.

Es interesante el hecho de que la ausencia de expresión de CD44std retenga su valor predictivo de invasión ganglionar en esta subcohorte de tumores más pequeños. Ello indica que la pérdida de adhesión intercelular es uno de los primeros pasos en la cadena metastática, lo que, por otro lado, no sorprende desde un punto de vista conceptual. Parece muy lógico, de hecho, que antes de migrar hacia otros territorios, las células tumorales deban desanclarse de sus vecinas, y es sabido que la molécula CD44std actúa como una especie de pegamento biológico intercelular, que ayuda a mantener la estructura tisular. Nuestro estudio es el primero en analizar el papel de la expresión de CD44std en cánceres de mama de diámetro igual o inferior a 1 cm, y refrenda el papel fundamental que juega este marcador molecular en el proceso de la metástasis axilar, ya apuntado en nuestro estudio previo realizado sobre la familia completa de tumores T1, incluyendo los T1c, de mayor tamaño (6).

De manera similar, una alta proliferación, evidenciada por un índice Ki67 superior al 10%, se asocia de manera significativa a la invasión ganglionar en nuestro grupo de estudio, igual que sucedía en el trabajo previo sobre tumores de hasta 2 cm de diámetro.

Varios grupos han estudiado con anterioridad la posibilidad de predecir la invasión ganglionar en cánceres de mama T1a y T1b a partir de las características del tumor primario (9-11), pero ninguno ha incluido como variables la expresión de marcadores moleculares, tal y como hemos hecho nosotros. Todos ellos, sin embargo, coinciden en que la invasión del espacio linfático vascular se asocia de manera significativa con la presencia de metástasis axilares. En nuestros informes anatomopatológicos no se recoge dicho hallazgo de forma sistemática, y por ello nos es imposible verificar dicha correlación en nuestra serie.

En conclusión, por nuestros datos parece que células tumorales altamente proliferativas, y además capaces de desanclarse de sus vecinas, son aquellas que inician el proceso de metastatización axilar en el cáncer de mama ya desde sus estadios más precoces. Recíprocamente, tumores de 1 cm de diámetro o menos, bien diferenciados, prácticamente nunca presentan metástasis axilares.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cady B. New era in breast cancer. Impact of screening on disease presentation. *Surg Oncol Clin N Am* 1997; 6:195-202.
2. Kuehn T, Vogl FD, Helms G, et al. Sentinel-node biopsy for axillary staging in breast cancer: results from a large prospective German multi-institutional trial. *Eur J Surg Oncol* 2004; 30: 252-9.
3. Bergkvist L, Frisell J. Multicentre validation study of sentinel node biopsy for staging in breast cancer. *Br J Surg* 2005; 92: 1221-4.
4. Schneider J, Rubio MP, Rodríguez-Escudero FJ, Seizinger BS, Castresana JS. Identification of p53 mutations by means of SSCP (single strand conformation polymorphism) analysis in gynaecologic tumors: comparison with the results of immunohistochemistry. *Eur J Cancer* 1994; 30A: 504-8.
5. Schmitt FC, Soares R, Cirnes L, Seruca R. P53 in breast carcinomas: Association between presence of mutation and immunohistochemical expression using a semiquantitative approach. *Pathol Res Pract* 1998; 194: 815-9.
6. Schneider J, Pollán M, Jiménez E, et al. Histologic grade, Ki67 and CD44 are predictors of axillary lymph node invasion in early (T1) breast cancer. *Tumor Biol* 1999; 20: 319-30.
7. Schneider J, Lucas R, Sánchez J, Tejerina A, Ruibal A. Cellular accumulation of uPA-PAI1 and uPA-PAI2 complexes in early (pT1) breast cancer: A new link in the uPA-uPAI-PAI chain. *In Vivo* 2000; 14: 507-12.
8. Schneider J, Pollan M, Tejerina A, Sanchez J, Lucas AR. Accumulation of uPA-PAI-1 complexes inside the tumour cells is associated with axillary nodal invasion in progesterone-receptor-positive early breast cancer. *Br J Cancer* 2003; 88: 96-101.
9. Port ER, Tan LK, Borgen PI, van Zee KJ. Incidence of axillary lymph node metastasis in T1a and T1b breast carcinoma. *Ann Surg Oncol* 1998; 5: 23-7.
10. Shoup M, Malinzak L, Weisenberger J, Aranha GV. Predictors of axillary lymph node metastasis in T1 breast carcinoma. *Am Surg* 1999; 65: 748-52.
11. Mann GB, Port ER, Rizza C, Tan LK, Borgen PI, van Zee KJ. Six-year follow-up of patients with microinvasive, T1a, and T1b breast carcinoma. *Ann Surg Oncol* 1999; 6: 591-8.