

ORIGINAL

Carcinomas infiltrantes mamarios en mujeres menores de 40 años: posible interés fisiopatológico del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)

A. Ruibal, M. C. Pombo, J. I. Arias¹

Servicio de Medicina Nuclear. Hospital Clínico Universitario. Facultad de Medicina. Santiago de Compostela, A. Coruña
¹Servicio de Cirugía General. Hospital Monte del Naranco. Oviedo, Asturias

RESUMEN

Objetivo: Estudiar las características clínico-biológicas de los carcinomas mamarios de pacientes con edad < 40 años y compararlas con las de mujeres de edad comprendida entre 40 y 45 años.

Pacientes y método: Incluyen dos subgrupos: a) 11 mujeres con una edad < 40 años; y b) 26 con edades comprendidas entre 40 y 45 años. Hemos determinado las concentraciones de EGFR en las membranas celulares, así como las del receptor de estrógenos, de progesterona, pS2, y catepsina D citosólicas. Se consideró, además, el tamaño, afectación axilar, metástasis a distancia, grado y subtipo histológico, así como la fase de síntesis celular (FS).

Resultados: Los tumores de mujeres < 40 años mostraron mayores concentraciones de EGFR ($p < 0,05$) y fueron más frecuentemente EGFR positivo (> 5 fmol/mg prot. $-p < 0,01-$ y FS $> 7%$ $-p < 0,01-$). No se constataron diferencias en el número de recidivas y muertes observadas durante el seguimiento. El patrón tisular RE negativo/EGFR-negativo se asoció significativamente a tumores en mujeres entre los 40 y 45 años, mientras que el patrón RE-negativo/EGFR-positivo lo hizo con los de mujeres < 40 años.

Conclusiones: Nuestros resultados, sugieren que los carcinomas mamarios en mujeres < 40 años parecen cursar con una mayor proliferación y expresión de EGFR que los de mujeres con edad comprendida entre los 40 y 45 años, asociándose a un patrón tisular RE-negativo/EGFR-positivo; son necesarios más estudios para poder precisar el valor del EGFR en la biología de los carcinomas mamarios de mujeres jóvenes.

Palabras clave: Cáncer de mama. Edad < 40 años. EGFR.

Recibido: 03-07-07.

Aceptado: 14-01-08.

Correspondencia: A. Ruibal. Servicio de Medicina Nuclear. Hospital Clínico Universitario. C/ Choupana, s/n. 15706 Santiago de Compostela, A. Coruña. e-mail: alvaro.ruibal.morell@sergas.es

ABSTRACT

Objective: To study the clinical-biological features of infiltrating breast carcinomas in women aged < 40 years and to compare then with those observed in women aged 40-45 years with the same malignant tumours.

Material and methods: The study group included two subgroups: a) 11 women aged < 40 years; and b) 26 women aged between 40 and 45 years. We assayed the levels of epidermal growth factor receptor in cell surfaces, as well as the cytosolic concentrations of estrogen receptor, progesterone receptor, pS2 and cathepsin D. Tumor size, axillary involvement, distant metastasis, histological grade and cellular S-phase (SP) were taken account.

Results: The breast carcinomas of patients aged < 40 yrs. had higher concentrations of EGFR ($p < 0,05$) and were more often EGFR positive (> 5 fmol/mg prot.; $p < 0,01$) and FS $> 7%$ ($p < 0,01$). We did not observed any statistically differences in the number of recurrences and deaths in both subgroups of patients. The ER-negative/EGFR-positive pattern associated significantly with the tumors of women aged between 40 and 45 years, whereas the RE-negative/EGFR-negative associated with the tumors of patients aged less than 40 years.

Conclusions: Our results suggest that the breast carcinomas in women aged < 40 yrs. show a greater proliferation and EGFR expression than those of women aged between 40 and 45 yrs., being associated with ER-negative/EGFR-negative pattern. Further studies are necessary to know the EGFR role in breast carcinomas in young women.

Key words: Breast tumor. Age < 40 years. EGFR.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años estamos asistiendo a la aparición de carcinomas mamarios en mujeres cada vez más jóvenes. Así, en Dinamarca, un 12% de los casos se presentan en mujeres con una edad inferior a los 34 años (1), pero este hecho no se ha constatado en otros países (2). Cuando se manifiestan en mujeres de edad inferior a los

35 años, los tumores cursan con ciertas alteraciones genéticas, suelen ser más frecuentemente T2, grado histológico o nuclear 3, hormonoindependientes, muy proliferativos, expresan más frecuentemente erbB2 y p53 (3) y se asocian con un peor comportamiento y evolución (4,5). Lo mismo ocurre al considerar los tumores en mujeres menores de 40 años (6), donde, además, suele constatar una historia familiar previa, un mayor uso de anticonceptivos orales y una menarquia más precoz (3). Un aspecto a resaltar es que los carcinomas mamarios en mujeres menores de 45 años poseen un riesgo 5 veces mayor de desarrollar otro en la mama contralateral (7).

En la génesis de los carcinomas mamarios los estrógenos juegan un papel muy importante, no sólo por sus efectos directos, sino también a través de interrelaciones con ciertos receptores de factores de crecimiento, entre los que destaca el del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (8). Este es un miembro de una familia de receptores de membrana con actividad intrínseca tirosín-quinasa y está involucrado en la génesis y evolución de muchos tumores (9). En relación con los de origen mamario, sabemos que se expresa en un 27% de los casos y que se correlaciona inversamente con el receptor de estrógenos, comportándose, para algunos grupos tras análisis multivariante, como un factor pronóstico de intervalo libre de enfermedad en los casos sin afectación axilar y de supervivencia global cuando aquella existe (10,11).

Dado que generalmente en la literatura se comparan los tumores mamarios de mujeres jóvenes con los de pacientes postmenopáusicas, el interés actual del EGFR y su relación con la hormonodependencia y que las mujeres premenopáusicas expresan, en nuestra experiencia, mayores concentraciones de este receptor, nos pareció interesante analizar el comportamiento del receptor del factor de crecimiento epidérmico en pacientes premenopáusicas diferenciando las < 40 años y las de edad comprendida entre 40 y 45 años, siendo conscientes del reducido número de pacientes que podíamos incluir en alguno de estos subgrupos, por lo que los resultados deben ser considerados como preliminares.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las pacientes incluidas en el presente estudio se clasificaron en dos grandes grupos:

1. Integrado por 11 mujeres afectas de carcinoma infiltrante de mama, con una edad < 40 años (27-39; $33,6 \pm 4,9$; mediana 34), siendo 9 de ellos carcinomas ductales. Presentaban afectación ganglionar axilar 6 mujeres (54,5%).

2. Incluye 26 mujeres afectas de carcinomas infiltrantes de mama, con edades comprendidas entre 40 y 45 años ($42,9 \pm 1,8$; mediana 43) y siendo 19 carcinomas ductales. Presentaban afectación ganglionar axilar 13 pacientes (50%).

Todas las pacientes fueron estudiadas y tratadas en el Servicio de Cirugía General del Hospital Monte del Naranco de Oviedo. Nunca habían recibido tratamientos previos y el tiempo de seguimiento fue el siguiente: mujeres < 40 años: i: 7-140; $52,1 \pm 42,2$; mediana 39; mujeres 40-45 años: i: 5-182; $57,0 \pm 36,6$; mediana 51 meses. No tenemos información acerca de las posibles mutaciones en los genes BRCA1 ó 2, más frecuentes en mujeres jóvenes con estos tumores, pero sí comprobamos que 5 tenían una historia familiar (3 en el sugrupo < 40 años y 2 en el de mujeres entre 40 y 45 años).

La preparación de las muestras hísticas se realizó siguiendo el protocolo de la EORTC para la determinación de los receptores esteroideos y en ellas analizamos las concentraciones de EGFR en las membranas celulares, utilizando un método de radioligando de Vialab (Austria) de un solo punto. La sensibilidad del método se determinó usando una muestra de placenta humana diluida en tampón TRIS y manteniendo la concentración de proteína en 2,5 ng/ml con BSA (seroalbúmina bovina), y fue de 1 fmol/mg prot. El dintel de positividad fue establecido en 4,5 fmol/mg prot., que representa casi la mediana (4,2) de los valores obtenidos previamente en un grupo de 528 carcinomas mamarios. También consideramos un segundo dintel en 10 fmol/mg prot., que fue superado por el 28,2% de aquellas muestras. Asimismo, dosificamos las concentraciones citosólicas de receptores de estrógenos (RE; EIA. Abbott. EE.UU.; dintel de positividad 10 fmol/mg prot.), de progesterona (RP; EIA. Abbott. EE.UU.; dintel de positividad 10 fmol/mg prot.), pS2 (IRMA. CIS Biointernational. Francia) y catepsina D (IRMA. CIS Biointernational. Francia). Tuvimos presente, asimismo, el tamaño, afectación axilar (N), metástasis a distancia (M), grado histológico (GH) y la fase de síntesis celular (FS), medida por citometría de flujo en muestras en fresco (Fascam. Beckton Dickinson. EE.UU.). El dintel de positividad para la FS fue establecido en 7%, que se corresponde con la mediana obtenida previamente en un grupo de 390 carcinomas infiltrantes. Todos los parámetros biológicos hísticos fueron expresados por mg de proteína, medida por el método de Bradford. Otros detalles técnicos y analíticos han sido expuestos en otro estudio (12). Dado que los resultados obtenidos no seguían una distribución normal, hemos empleado tests estadísticos no paramétricos (Mann Whitney) y el del χ^2 con la corrección de Yates cuando fue necesaria para la comparación de proporciones. Una diferencia se consideró estadística cuando el valor de p fue inferior a 0,05.

RESULTADOS

Tal como se expone en las tablas I y II, los carcinomas mamarios de mujeres < 40 años mostraron, en relación a los de mujeres con edad comprendida entre los 40 y 45 años, mayores concentraciones globales de EGFR ($p < 0,05$) y fueron más frecuentemente EGFR positivo, tanto

Tabla I. Distribución de los valores de los diferentes parámetros analizados en pacientes con carcinomas mamarios en mujeres < 40 años y entre 40 y 45 años

Parámetro	< 40 a		40-45 a		p
	intervalo	mediana	intervalo	mediana	
Tamaño	0,6-10	2,0	0,2-6	2,0	ns
RE	1,0-67,6	5,1	1,0-33	2,0	ns
RP	1,0-27	12,1	1,0-114	4,5	ns
pS2	2,0-42,4	2,4	2,0-231	3,9	ns
CATD	20-86,4	35,8	20-97,9	3,7	ns
EGFR	6-382	82,5	1,0-18	3,5	< 0,05

Tamaño: cm; RE: receptores de estrógenos (fmol/mg prot.); RP: receptores de progesterona (fmol/mg prot.); pS2: ng/mg prot.; CATD: catepsina D (pmol/mg prot.); EGFR: receptor del factor de crecimiento epidérmico (fmol/mg prot.).

Tabla II. Distribución de los valores cualitativos de los diferentes parámetros analizados en pacientes con carcinomas mamarios en mujeres < 40 años y entre 40 y 45 años

Parámetro	< 40 a	40-45 a	p
N+	6/11	13/26	ns
M+	2/11	4/26	ns
GH3	5/11	7/26	ns
> 2 cm	5/11	12/26	ns
> 5 cm	1/11	1/26	ns
RE+	4/11	9/26	ns
RP+	7/11	10/26	ns
pS2+	7/11	14/26	ns
EGFR > 4,5	11/11	10/26	0,001
EGFR > 10	9/11	5/26	< 0,001
CDI	9/11	19/26	ns
CLI	1/11	3/26	ns
Mucinoso	1/11	0/26	ns
FS > 7%	11/11	9/26	< 0,001

N: afectación ganglionar axilar; M: metástasis a distancia; GH: grado histológico; RE: receptor de estrógenos; RP: receptor de progesterona; EGFR: receptor del factor de crecimiento epidérmico; CDI: carcinoma ductal infiltrante; CLI: carcinoma lobulillar infiltrante; FS: fase de síntesis celular (%).

con el dintel de 5 fmol/mg prot. ($p < 0,01$), como de 10 fmol/mg prot. ($p: 0 < 0,01$), y FS > 7% ($p < 0,01$). No se constataron diferencias en el resto de parámetros analizados, ni en el número de recidivas (33/11 vs. 4/25) y muertes (2/11 vs. 1/25) observadas durante el seguimiento.

Profundizando en la fisiopatología, quisimos comparar la expresión de EGFR con la de los receptores de estrógenos, observando que los carcinomas en mujeres < 40 años fueron más frecuentemente (7/11 vs. 8/26; $p: 0,091$) RE-negativos/EGFR-positivos, mientras que los de mujeres de edad comprendida entre 40 y 45 años cursaron más frecuentemente (0/11 vs. 10/26; $p: 0,024$) con negatividad para ambos receptores.

DISCUSIÓN

En el momento actual, un 5-7% de los cánceres de mama son diagnosticados en mujeres menores de 40 años

y un 0,6% por debajo de los 30 años (13,14). Si bien existen recomendaciones para su control (15), se conocen poco los factores asociados a un mayor riesgo de este tumor en mujeres jóvenes, aunque se ha descrito que la ingesta de alcohol en los cinco años anteriores a su presentación puede ser importante (16). Los tumores de mujeres jóvenes tienen un peor perfil biológico (17), pero su mala evolución no siempre se ha demostrado (18).

Hoy en día conocemos las diferentes vías metabólicas relacionadas con los estrógenos (8) y que existe una interrelación bidireccional entre los receptores de estrógenos y del factor de crecimiento epidérmico, especialmente en los órganos del sistema reproductor, de tal forma que la activación de la señal celular mediada por el EGFR determinaría la fosforilación y activación del RE nuclear, así como de sus proteínas reguladoras. También conocemos la existencia de un RE alfa localizado en la membrana celular como una proteína citoplasmática, que utiliza la vía del EGFR para ejercer sus efectos biológicos a través de la fosfoinositol 3-quinasa (PI3K) (19).

Los tumores mamarios en mujeres premenopáusicas expresan más frecuentemente EGFR en relación a las postmenopáusicas, pero menos conocido es su comportamiento en aquellas clasificadas en función de la edad. Nosotros establecimos un nivel de corte en 40 años, pues los casos en mujeres por debajo de esta cifra son poco frecuentes. Hemos observado que los carcinomas mamarios de mujeres < 40 años cursaban, en relación a los presentes en mujeres de edad comprendida entre los 40 y 45 años, con una mayor proliferación celular y expresión del EGFR, tanto cuali- como cuantitativamente con los dinteles de 5 y 10 fmol/mg prot. Con todas las precauciones posibles por el reducido número de casos, de los resultados anteriores llama la atención el papel del EGFR en los tumores de las mujeres < 40 años, lo cual unido a la mayor frecuencia de fase S > 7% podría contribuir a explicar el comportamiento de estas neoformaciones malignas, pues sabemos que la proliferación celular se comporta como un factor pronóstico a largo plazo (15 años) en los casos T1 y sin ganglios axilares (20), así como después de ciertas terapias hormonales (21). Es decir, estos tumores serían diferentes de los presentes en mujeres de edad comprendida entre los 40 y 45 años.

Cuando clasificamos los carcinomas en función de la expresión del EGFR y de los receptores de estrógenos, pudimos ver que el patrón RE-negativo/EGFR-positivo se asociaba más frecuentemente a los tumores de mujeres < 40 años, mientras que el patrón RE-negativo/EGFR-negativo lo hacía con los de mujeres de edad comprendida entre los 40 y 45 años. Todo ello, sigue apoyando el interés del EGFR en los tumores de las mujeres < 40 años.

Estas diferencias desaparecieron cuando el subgrupo de mujeres de edad comprendida entre 40 y 45 años se comparó con otro de 93 mujeres de edad entre los 55-65 años (EGFR > 5: 10/26 vs. 39/93; FS > 7%: 9/26 vs. 38/93), escogidas expresamente para obviar la perimenopausia. Ello apoya la posibilidad de que los carcinomas

de mujeres muy jóvenes (< 40 años) posean un distinto patrón biológico, que no se aprecia cuando agrupamos las mujeres < 40 y entre 40 y 45 años. Sin embargo, estas diferencias no parecen influir en el comportamiento ulterior, reflejado por el número de recidivas y muertes.

Nuestros resultados nos inducen a las siguientes consideraciones: a) los carcinomas mamarios en mujeres de edad < 40 años cursan con una mayor proliferación y expresión de EGFR que los tumores de mujeres con edad comprendida entre los 40 y 45 años, pero ello no parece incidir en el comportamiento ulterior; b) el patrón tisular RE negativo/EGFR-negativo se asoció significativamente a tumores en mujeres entre los 40 y 45 años, mientras que el patrón RE-negativo/EGFR-positivo lo hizo con los de mujeres < 40 años; y c) son necesarios más estudios para poder precisar el valor del EGFR en la biología de los carcinomas mamarios de mujeres jóvenes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Van der Horst M, Winther JF, Olsen JH. Cancer incidence in the age range 0-34 years: historical and actual status in Denmark. *Int J Cancer* 2006; 118: 2816-26.
2. Levi F, Te VC, Maspoli M, Randimbison L, Bulliard JL, Vecchia CL. Trends in breast cancer incidence among women under the age of forty. *Br J Cancer* 2007; 7: 1013-4.
3. Sidoni A, Cavaliere A, Bellezza G, Scheibel M, Bucciarelli E. Breast cancer in young women: Clinicopathological features and biological specificity. *Breast* 2003; 12: 247-50.
4. Fernandopouille SM, Cher-Siangang P, Tan PH. Breast carcinoma in women 35 years and younger: A pathological study. *Pathology* 2006; 38: 219-22.
5. Guerra I, Algorta J, Díaz de Otazu R, Pelayo A, Fariña J. Immunohistochemical prognostic index for breast cancer in young women. *Mol Pathol* 2003; 56: 323-7.
6. Zabicki K, Colbert JA, Dominguez FJ, Gadd MA, Hughes KS, Jones JL, et al. Breast cancer diagnosis in women < or = 40 versus 50 to 60 years: increasing size and stage disparity compared with older women over time. *Ann Surg Oncol* 2006; 13: 1072-7.
7. Li CI, Malone KE, Porter PL, Daling JR. Epidemiologic and molecular risk factors for contralateral breast cancer among young women. *Br J Cancer* 2003; 89: 513-8.
8. Yager JD, Davidson NE. Estrogen carcinogenesis in breast cancer. *N Engl J Med* 2006; 354: 270-82.
9. Chan SK, Hill ME, William J. The role of the epidermal growth factor receptor in breast cancer. *J Mammary Gland Biology & Neoplasia* 2006; 11: 3-11.
10. Tsutomi S, Ohno S, Murakami S, Kataoka A, Kinoshita J, Hachitanda Y. Prognostic value of the combination of epidermal growth factor receptor and c-erbB2 in breast cancer. *Surgery* 2003; 133: 219-21.
11. Ferrero JM, Ramaoli A, Largillier RM, Formento JL, Francoual M, Ettore F, et al. Epidermal growth factor receptor expression in 780 breast cancer patients: a reappraisal of the prognostic value based on an eight-year median follow-up. *Ann Oncol* 2001; 12: 841-6.
12. Ruibal A, Arias JJ, Del Río MC, Lapena G, Schneider J, Tejerina A. Histological grade in breast cancer: association with clinical and biological features in a series of 229 patients. *Int J Biol Markers* 2001; 16: 56-61.
13. Bleyer A, Viny A, Barr R. Cancer in 15 to 29 year olds by primary site. *Oncologist* 2006; 11: 590-601.
14. Peacey V, Steptoe A, Davidsdottir S, Banan A, Wardle J. Low levels of breast cancer risk awareness in young women: an international survey. *Eur J Cancer* 2006; 42: 2585-9.
15. Hadden WE. Recommendations for the surveillance of young women at increased risk for breast cancer. *Australas Radiol* 2007; 51: 1-11.
16. Berstad P, Ma H, Bernstein L, Ursin G. Alcohol intake and breast cancer risk among young women. *Breast Cancer Res Treat* 2007; 28.
17. Batori M, Ruggieri M, Chatelou E, Straniero A, Marriotta G, Palombi L, et al. Breast cancer in young women: case report and a review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2006; 10: 51-2.
18. Foo CS, Su D, Chong CK, Chng HC, Tay KH, Low SC, et al. Breast cancer in young Asian women: study on survival. *ANZ J Surg* 2005; 75: 566-72.
19. Levin ER. Directional signalling between the estrogen receptor and the epidermal growth factor receptor. *Mol Endocrinol* 2003; 17: 309-17.
20. Railo M, Lundin J, Haglund C, von Smitten K, Nordling S. Ki67, p53, ER receptors, ploidy and S-phase as long term prognostic factors in T1 node negative breast cancer. *Tumor Biol* 2007; 28: 45-51.
21. Dowsett M, Smith IE, Ebbs SR, Dixon JM, Skene A, A'Hern R, et al. Prognostic value of Ki67 expression after short-term pre-surgical endocrine therapy for primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 167-70.