

Receptores del factor de crecimiento epidérmico en cáncer de mama*

P. Bolufer-Gilabert**, A. Lluch-Hernández*** y F. Miralles-Dolz

Laboratorio de Hormonas
Departamento de Biopatología Clínica
Centro Maternal, Hospital «La Fe»
46009 Valencia (España)

(Recibido el 19 de diciembre de 1989)

P. BOLUFER-GILABERT, A. LLUCH-HERNANDEZ and F. MIRALLES-DOLZ. *Receptors of the Epidermic Growth Factor in Mammary Cancer*. Rev. esp. Fisiol., 46 (1), 103-108, 1990.

Epidermal growth factor receptor (EGFr) and cytosolic (cER) and nuclear (nER) estradiol receptors were quantified in 220 primary breast cancers. The EGFr was significantly more frequent ($X^2 = 5.9$; $P < 0.025$) and its concentration was significantly higher ($P < 0.001$) among ER- tumors than in ER+ tumors. There was a significantly greater proportion ($X^2 = 6.4$; $P < 0.05$) of node involvement in EGFr+/ER+ tumors than in EGFr-/ER+. Increases in the proportion of EGFr+ in ER- tumors are parallel to Scarff-Bloom scores ($X^2 = 6.1$; $P < 0.05$) and there is a significant trend towards increased EGFr concentrations with histologic dedifferentiation. In ER+ tumors the median concentrations of EGFr in the different age groups show linear correlation and follow a parallel profile with the medians of nER. These findings support the hypothesis that considers EGFr as a bad prognosis factor and suggest that EGFr expression and concentration in ER+ tumors might be considered an estrogenic action mediated through the binding of ER to their nuclear acceptors.

Key words: Epidermal growth factor receptor, Breast cancer.

Si bien se sabe la importancia que tienen los receptores de estrógenos (RE) y de progesterona (RP) en el cáncer mamario humano, en los últimos años un buen número de publicaciones han enfatizado la importancia creciente que puede tener el factor de crecimiento epidérmico (EGF) o

el factor de crecimiento tumoral α (TGF α) y su receptor (REGF) en el crecimiento y difusión del cáncer mamario humano (5, 10).

El REGF se ha encontrado en el cáncer mamario humano, siendo más frecuente en los tumores RE- que en los RE+ (2, 3, 8, 16). Se ha relacionado la presencia de REGF con factores considerados como de mal pronóstico, tales como la afectación ganglionar (3, 19), mayor indiferenciación histológica (18), falta de respuesta a la terapéutica endocrina (14, 15), y con tiem-

* Estudio financiado en parte con una ayuda del FIS (88/1832).

** A quien debe dirigirse la correspondencia.

*** Departamento de Hematología y Oncología Médica. Hospital Clínico Universitario. Facultad de Medicina. 46080 Valencia.

pos de supervivencia global y períodos libres de enfermedad más cortos (17).

El presente estudio trata de verificar el valor del REGF en el cáncer mamario humano cualitativa y cuantitativamente, contrastando los resultados de las determinaciones de REGF en cánceres mamaros con los resultados de las determinaciones de RE en las fracciones citosólica (REc) y nuclear (REn), así como con el grado de indiferenciación histológica y otros factores pronósticos.

Material y Métodos

Se ha determinado el REGF y RE en 220 cánceres primitivos de mama (188 ductales, 18 lobulillares, 4 medulares, 2 tubulares y los 8 restantes de otros tipos). En 118 de estas pacientes se encontró infiltración ganglionar en el momento de la mastectomía y 9 pacientes desarrollaron metástasis a distancia durante el período de seguimiento (11 meses).

El grado de indiferenciación histológica se ha valorado empleando el índice de Scarff-Bloom asignando puntuaciones entre 3 a 9 ó agrupando los tumores en tres grados: Grado I que incluye las puntuaciones entre 3 a 5; el II que comprende la 6-7 y, el III que abarca la 8-9 (4, 7, 18).

La cuantificación de REGF es un ensayo de saturación de dos puntos consistente en la incubación por duplicado de 100 μ l de la preparación de membranas plasmáticas del tejido o tumor con 100 μ l EGF-I¹²⁵ (40,000 cpm \approx 200-300 fmol/ml) más 200 μ l del tampón de ensayo (unido total) o con 200 μ l de una solución de 8333 fmoles EGF frío (unido inespecífico). El unido específico se obtiene sustrayendo a la media de las cpm de los dos tubos unido total la media de las cpm de los dos tubos de unido inespecífico. Los resultados finales se expresan en fmol EGF-I¹²⁵ unido a las membranas/g de proteína total (PT) del homogeneizado.

Se han adoptado como criterios, para

definir la positividad (REGF+), el hallazgo de concentraciones de REGF superiores a los 0,5 fmol/ml de homogeneizado con unido inespecífico inferior al 70 % del unido total.

Con la excepción de 18 muestras, en que la determinación de RE se hizo empleando un procedimiento inmunoquímico (9), en el resto se han determinado los RE citosólicos (REc) y nucleares (REn) de acuerdo con el método de LEAKE (13) y siguiendo el sistema multipunto de Scatchard, empleando estradiol ³H como ligando marcado y dietilestilbestrol como competidor frío. La separación de las fracciones unida y libre se efectúa con carbón dextrano en el citosol y mediante filtración para la fracción nuclear.

Los resultados se expresan en fmol REc/mg PT en la fracción citoplasmática y como cociente con el ADN (6, 12), en la fracción nuclear.

Un tumor se considera positivo (RE+) cuando lo sea simultáneamente en las fracciones citosólica y nuclear; negativo (RE-), cuando esta condición no se cumpla.

Resultados

REGF Y RE

Los tumores REGF+ son significativamente más frecuentes en los cánceres RE- que en los RE+. Asimismo los RE- tienen, también, una concentración de REGF significativamente superior a la de los RE+ (tabla I).

REGF Y TNM TUMORAL

REGF y tamaño tumoral (T). — No se ha encontrado diferencia significativa entre la proporción de tumores REGF+ en los tumores RE+ o RE- y el tamaño tumoral (tabla II), ni en la concentración de REGF encontrada entre los diferentes tamaños tumorales.

Tabla I. Medianas (n) de REGF y RE (fmol/g) en cánceres primitivos de mama. Entre paréntesis se da el rango de valores.

RE	Edad (años)	n	REGT/PT	n	REc/PT	n	REn/ADN	n
-	55 (27-83)	145	1167 (161-25078)	69	—	—	—	—
+	60 (29-81)	75	668 (260-4663)	23	65 (5-475)	71	562 (13-3099)	53
MANN W U X ² ; P	2,3; < 0,02		3,2; < 0,001 5,9; < 0,025	—		—		

REGF y afectación ganglionar. — No se ha encontrado relación alguna entre la presencia de REGF con la afectación ganglionar en los tumores RE-, sin embargo, en el grupo de los RE+ la afectación ganglionar se incrementa significativamente con la presencia de REGF (fig. 1. C). No obstante, estos hallazgos cualitativos no se corresponden con resultados similares cuantitativos.

REGF y metástasis a distancia (M). — No se han encontrado diferencias estadís-

ticamente significativas ni en la proporción ni en la concentración de REGF con la presencia o ausencia de metástasis a distancia (tabla III).

REGF y grado de indiferenciación histológica. — En los tumores RE- existe un aumento en la proporción de REGF+ paralela con el grado de indiferenciación histológica (fig. 1. B).

Cuando se consideran conjuntamente los tumores RE+ y RE- se encuentra una correlación positiva entre la concentración

Tabla II. Medianas (n) de REGF (fmol/g) y tamaño tumoral en carcinomas primitivos de mama. Entre paréntesis se da el rango de valores.

T	RE-			RE+		
	REGF/PT	n	T*	REGF/PT	n	T*
1	2094 (716-13471)	9	22	867 (693-1041)	2	13
2	1044 (249-25078)	36	78	681 (442-2199)	12	34
3	867 (243-9068)	13	25	403 (260-4663)	5	11
4	1645 (162-6119)	6	11	778 (594-870)	3	10
K. W. H+; P X ² ; P	5,4 ; n. s. 0,8; n. s.			2,9; n. s. 2,8; n. s.		

*T = Número total de tumores. n = Número de tumores REGF. K.W.H = Prueba H de Kruskal-Wallis. n.s. = No significativo.

de REGF y el índice de Scarff-Bloom (fig. 1. A).

REGF y edad de las pacientes. — Las medianas de REGF de los cánceres RE-

permanecen casi constantes a lo largo de los diferentes grupos de edad, excepto en el grupo de mayor edad que experimentan un descenso. Sin embargo, en los tumores RE+ las medianas de la concentración de

Tabla III. Medianas (n) de REGF (fmol/g) y metástasis en el cáncer primitivo de mama. T = Número total de tumores. Entre paréntesis se da el rango de valores. n. s. = no significativo.

M-/+	RE-	n	T	RE+	n	T
-	1167 (123-13471)	67	140	668 (260-4663)	21	71
+	954 (562-25078)	3	5	678 (578-778)	2	4
MANN W U; P	0,2; n. s.			0,1; n. s.		

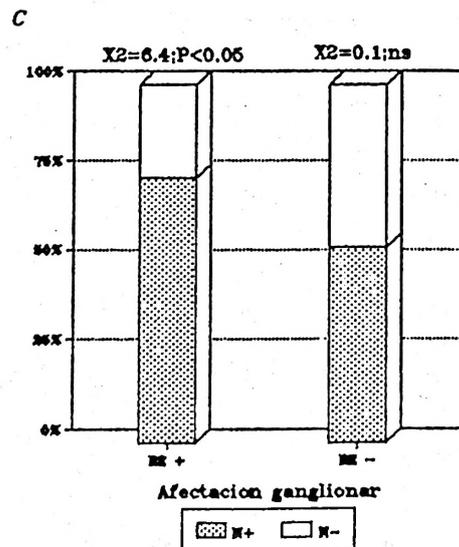
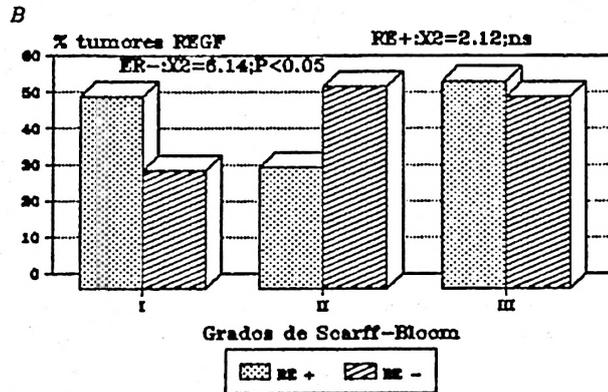
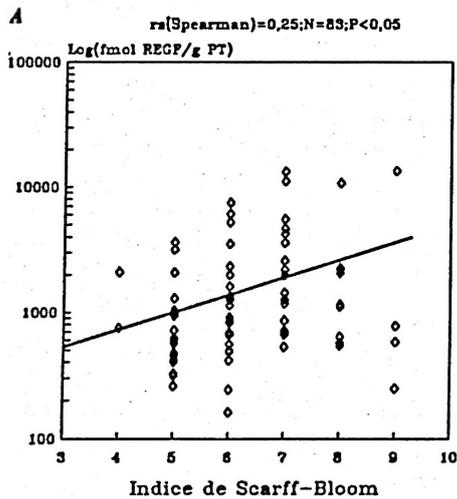


Fig. 1. Correlación entre la concentración de REGF (A) o la presencia de REGF (B) y el grado histológico (índice de Scarff-Bloom). Afectación ganglionar en los tumores REGF+ en relación con la presencia de RE (C).

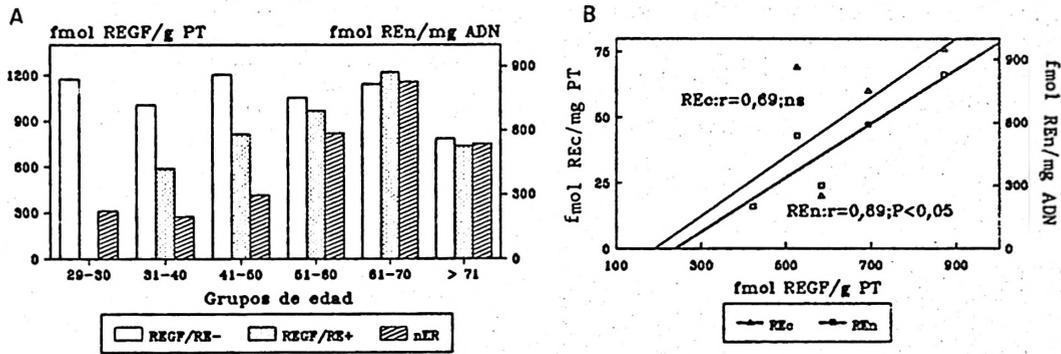


Fig. 2. Perfil de medianas de REGF y concentraciones de REN en los tumores RE+ y RE- de los diferentes grupos de edad (A) y correlación del REGF con los REc o REN en los cánceres RE+ (B).

REGF siguen un perfil paralelo a los REN (fig. 2. A), pudiéndose comprobar la existencia de una correlación lineal entre ambos parámetros (fig. 2. B).

Discusión

La proporción global de 42 % de REGF+ encontrada, aunque similar a la de otros trabajos (2, 3) resulta mayor que la descrita por otros autores (1, 8, 16).

Existe una coincidencia prácticamente unánime en que los tumores REGF+ se presentan con más frecuencia entre los cánceres RE- (2, 8, 16, 18). Aquí, al igual que otros estudios con RP (2), se demuestra que los tumores RE-, además de tener mayor proporción de REGF+, también tienen una mayor concentración de receptor en comparación con los RE+.

Existe una mayor proporción de afectación ganglionar en los tumores REGF+/RE+ que en los REGF-/RE+, pero, a diferencia de lo que se afirma en otros estudios (17, 19), no se pudo demostrar ni la existencia de una mayor proporción global de REGF+, en los tumores con infiltración ganglionar, ni relación alguna entre la concentración de REGF y el tamaño tumoral.

Existe una tendencia no sólo hacia una

mayor proporción de REGF+ con los grados de indiferenciación histológica (1, 18, 19), sino que también hay una tendencia manifiesta al incremento en la concentración de REGF.

Las medianas de las concentraciones de REGF de los cánceres RE+ y RE- siguen perfiles diferentes. En los RE+ las concentraciones de REGF son paralelas a los RE, especialmente con los REN, mientras que en los tumores RE- la concentración de REGF se mantiene prácticamente constante a lo largo de las edades, con la excepción de la caída experimentada en el grupo de mayor edad. La correlación existente entre los REN y el REGF en los RE+ queda satisfactoriamente explicada por JORDAN (11) que postula que los REGF se inducirían por la acción del E₂ a través de su fijación en los aceptores nucleares.

Por otra parte, los resultados confirman los de otros estudios (1, 16-19) en el sentido de que la presencia de REGF está estrechamente asociada con una mayor agresividad tumoral, con independencia de los RE.

La mayor proporción de afectación ganglionar en los tumores REGF+/RE+ y el paralelismo existente entre la concentración de REGF y los REN en los tumores RE+, sugieren que la concentración de REGF y su expresión en los cán-

ceres RE+ podría corresponder a acciones estrogénicas, lo que daría significados diferentes a los cánceres REGF+, dependiendo de la presencia o no de RE.

Resumen

Se determinan receptores de factor de crecimiento epidérmico (REGF) y receptores de estradiol (RE) en las fracciones citosólica (REc) y nuclear (REn) de 220 carcinomas primitivos de mama. El REGF se presenta en una proporción significativamente mayor ($X^2 = 5,9$; $P < 0,025$) y con concentración más elevada ($P < 0,01$) en los tumores RE- que en los cánceres RE+. Hay una proporción significativamente mayor de afectación ganglionar en los tumores REGF+/RE+ en comparación con los REGF-/RE+ ($X^2 = 6,1$; $P < 0,05$). En los cánceres RE- existe un aumento en la proporción de REGF+, paralelo al índice de Scarff-Bloom ($X^2 = 6,1$; $P < 0,05$), con una tendencia significativa al incremento en las concentraciones de REGF paralelo con el grado de indiferenciación histológica. En los cánceres RE+ la mediana de las concentraciones de REGF, en los diferentes grupos de edad, sigue un perfil paralelo al de las medianas de REn de esos grupos. Estos hallazgos afianzan la hipótesis que considera al REGF como un factor de mal pronóstico y sugieren que la expresión del REGF en los cánceres RE+ pueda considerarse como una acción estrogénica mediada a través de la unión de los RE con sus aceptores a nivel nuclear.

Palabras clave: Receptor de factor de crecimiento epidérmico, Cáncer de mama.

Bibliografía

- Barnes, D. M., Lammie, G. A., Millis, R. R., Gullick, W. L., Allen, D. S. y Altman, D. G.: *Br. J. Cancer*, 58, 448-452, 1988.
- Battaglia, F., Polizzi, G., Scambia, G., Rossi, S., Benedetti-Panici, P., Iacobelli, S., Crucitti, F. y Mancuso, S.: *Oncology*, 45, 424-427, 1988.
- Battaglia, F., Scambia, G., Rossi, S., Benedetti-Panici, P., Bellantone, R., Polizzi, G., Querzoli, P., Negrini, R., Iacobelli, S., Crucitti, F. y Mancuso, S.: *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 24, 1.685-1.690, 1988.
- Bloom, H. J. G. y Ricardson, W. W.: *Br. J. Cancer*, 11, 359-377, 1957.
- Bolufer, P.: *Oncología*, 11, 1-7, 1988.
- Burton, K.: *Biochem. J.*, 62, 315-322, 1956.
- Contesso, G., Moorisse, H., Friedman, S., Genin, J., Serrazin, D. y Rousesse, J.: *J. Clin. Oncol.*, 9, 1.378-1.386, 1987.
- Delarue, J. C., Friedman, S., Mourisse, H., May-Levin, F., Sancho-Garnier, H. y Contesso, G.: *Breast Can. Res. Treat.*, 11, 173-178, 1988.
- Green, G. L. y Press, M. F.: En «Immunological Approaches to the Diagnosis and Therapy of Breast Cancer» (Ceriani, R. L., ed.) Plenum Press, New York, 1987, pp. 119-135.
- James, R., Bradshaw, R. A.: *Ann. Rev. Biochem.*, 48, 259-289, 1979.
- Jordan, V. C.: «Endocrine Therapy of Breast Cancer. Concepts and Strategies» (Cavalli, F., ed.) Springer-Verlag, Heidelberg, 1986, 41-49.
- Katzelenbogen, B. S. y Leake, R. E.: *J. Endocrinol.*, 63, 439-449, 1974.
- Leake, R. E., Laing, L. y Smith, D. C.: En «Steroid receptor assays in human breast tumors: Methodological and clinical aspects» (King, R. J. B., ed.) Alpha Omega Press, Cardiff, 1979, 75-86.
- Nicholson, S., Halcrow, P., Sainsbury, J. R. C., Agnus, B., Chambers, P. y Farndon, J. R.: *Br. J. Cancer*, 58, 810-814, 1988.
- Nicholson, S., Sainsbury, J. R. C., Halcrow, P., Chambers, P., Farnsdon, J. R. y Harris, A. L.: *Lancet*, i: 182-184, 1989.
- Sainsbury, J. R. C., Farndon, J. R., Sherbert, G. V. y Harris, A. L.: *Lancet*, i, 364-366, 1985.
- Sainsbury, J. R. C., Farndon, J. R., Needham, G. K., Malcolm, A. J. y Harris, A. L.: *Lancet*, i, 1.398-1.402, 1987.
- Sainsbury, J. R. C., Malcolm, A. J., Appleton, D. R., Farndon, J. R. y Harris, A. L.: *J. Clin. Path.*, 38, 1.225-1.228, 1985.
- Spitzer, E., Koepe, K., Kunde, D. y Grosse, R.: *Breast Can. Res. Treat.*, 12, 45-49, 1988.