

F. Llopis*,
 F. Miralles**,
 P. Bolufer**,
 S. Lledó*,
 C. Vázquez***,
 A. Lluch****

Receptor del factor de crecimiento epidérmico en el cáncer de mama humano

SUMMARY

We have studied the Epidermal Growth Factor Receptor (REGF) presence in 245 samples of breast cancer, 220 of them were primary tumors and 25 metastatic, as well as the relationship with the estrogen receptor (RE) and the clinicopathologic parameters.

It was detected REGF in 42% of them and a significant inverse relation between REGF and RE status. There was no relation between REGF and tumor size, and neither with axillary nodal involvement. All metastatic nodes were REGF +/RE-. REGF was found in the whole of the histologic patterns except in the lobular tipe, and a relationship between REGF and poor differentiation.

* Hospital de Sagunto. Valencia.
 ** Hospital La Fe. Valencia.
 *** Instituto Valenciano de Oncología. Valencia.
 **** Hospital Clínico Universitario. Valencia.

Correspondencia:
 F. Llopis Martínez.
 Servicio de Cirugía.
 Hospital Sagunto.
 Av. Ramón y Cajal, s/n.
 46520 Puerto de Sagunto
 (Valencia).

Palabras clave

Receptor del factor de crecimiento epidérmico, Receptor de estradiol, Cáncer de mama.

Key words

Epidermal growth factor receptor, Estrogen receptor, Breast cancer.

INTRODUCCION

Diversos estudios experimentales sostienen la importancia de los factores polipeptídicos de crecimiento (PGF) en la génesis y ulterior desarrollo del cáncer.¹ Uno de los PGF mejor caracterizados es el factor de crecimiento epidérmico o «epidermal growth factor» (EGF) aislado por Cohen y Carpenter en la glándula submaxilar del ratón^{2,3} y más tarde por Gregory en la orina humana con la denominación de urogastrona.⁴

El EGF es un potente estimulador de la proliferación celular en cultivos tanto de células no transformadas como de células tumorales.⁵ En el cáncer de mama el EGF actuaría de modo paracrino sobre las células epiteliales tumorales induciendo su crecimiento.⁶ Por

ello, se ha sospechado que la presencia de EGF o su receptor, el receptor del factor de crecimiento epidérmico (REGF), sean indicativos de mal pronóstico relacionados con tumores de crecimiento rápido y alta tendencia metastatizante, siendo para Sainsbury el mejor factor pronóstico de recidiva y muerte precoz en el cáncer de mama.⁷

En la mayoría de estudios efectuados se demuestra una relación inversa entre la presencia de REGF y de receptores de estradiol (RE).^{8,9,10} Otros autores encuentran relación entre la presencia de REGF y la afectación ganglionar (N+)^{8,11} y el mayor tamaño tumoral.¹² También se ha encontrado correlación entre la presencia de REGF y elevados grados de dediferenciación histológica^{10,13} y tendencia a metastaziar a nivel visceral.¹⁴

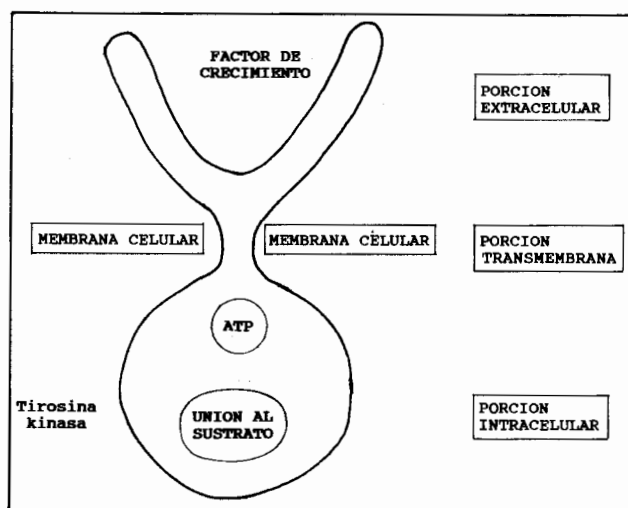


Fig. 1. Receptores tirosina kinasa. Estructura.

Estructura y mecanismo de acción

El EGF es un polipéptido termoestable que consta de una sola cadena de 53 aminoácidos. Su peso molecular es de 6.000 Da y contiene 3 puentes disulfuro que son necesarios para su actividad biológica.^{2, 3, 15}

El EGF media sus efectos a través de un receptor de membrana, el REGF, a la vez que estimula su propia síntesis.¹⁶ Se trata de una proteína de 170 kDa que presenta un dominio extracelular, que sirve de lugar para la unión del EGF, conectada mediante un segmento intramembranoso a un dominio citoplasmático con actividad tirosino-quinasa.¹⁷ (fig. 1).

Los factores de crecimiento actúan de un modo autocrino o paracrino sobre los receptores de membrana localizados en las mismas células o en las células vecinas, a los que se unen con alta afinidad. Tras la unión el complejo factor-receptor se internaliza en el citosol en forma de vesículas llamadas receptosomas,^{1, 5, 18} produciéndose un mecanismo de regulación inversa o «down regulation» de forma que la misma unión factor-receptor induce la internalización y disminución en el número de los receptores de membrana.

A pesar de los trabajos mencionados no está suficientemente esclarecido el papel del REGF en el cáncer mamario. Cabe cuestionarse si la clasificación de los carcinomas mamarios según el fenotipo combinado RE/REGF implicaría patrones de comportamiento biológico diferenciados que pudieran influir en la elección

TABLA I
CARACTERÍSTICAS DE LAS PACIENTES

Número pacientes.....	220
Edad (rango).....	51 (27-83)
Tamaño tumoral:	
T1.....	35 (17%)
T2.....	112 (55%)
T3.....	36 (18%)
T4.....	22 (11%)
Ganglios axilares:	
Negativos.....	102 (46%)
Positivos.....	118 (54%)
Receptores hormonales:	
RE+.....	75 (34%)
RE-.....	145 (66%)
Scarff-Bloom:	
I.....	68 (34%)
II.....	103 (52%)
III.....	28 (14%)

de la terapéutica a emplear e incluso la posibilidad de nuevas opciones con el empleo de agentes bloqueantes del REGF. En el presente trabajo se estudian las relaciones entre el REGF y los parámetros clásicos clinicopatológicos y los receptores estrogénicos.

MATERIAL Y METODOS

Se han estudiado un total de 245 muestras de carcinomas mamarios provenientes de pacientes tratados en varios hospitales de Valencia; 220 fueron carcinomas primitivos de mama (188 ductales, 18 lobulillares, 2 tubulares y 8 con histopatología diversa) y 25 fueron carcinomas metastásicos (11 recidivas locorregionales, 8 de la «segunda» mama y 6 de ganglios axilares y supraclaviculares). De los 220 carcinomas primitivos, 12 eran inflamatorios y 9 tenían metástasis en el momento de la determinación del REGF.

La mediana de edad de los pacientes fue de 56 años, con un rango entre 27 y 83, y la mediana de seguimiento de 11 meses. Las características de los estudios se resumen en la tabla I.

Los tumores fueron clasificados histopatológicamente según la OMS¹⁹ y el TNM de la UICC de 1982.²⁰ La indiferenciación histológica se basó en el método de Scarff y Handley modificado por Bloom y Richardson.²¹

Método determinación REGF

Tras la separación de las membranas se realiza según un método de saturación de doble punto que emplea mEGF-I¹²⁵ como ligando y mEGF como competidor frío. Los resultados se dan como f mol/g PT.

Método determinación RE

A partir de la fracción citosólica se determina por sistema multipunto de Scatchard empleando como ligando estradiol tritiado y como competidor frío dietilestilbestrol.

RESULTADOS

REGF y RE

Se detectó la presencia de REGF (REGF+) en un 42% de los tumores estudiados, existiendo una correlación inversa estadísticamente significativa ($p < 0,025$) entre la presencia de REGF y la de RE. Así 69 de los 145 cánceres RE- fueron REGF+ (48%) por sólo 23 de los 75 tumores RE+ (31%) (fig. 2). Además los cánceres mamarios RE- tuvieron una concentración mediana de 1.167 f-mol de REGF/g de PT, significativamente superior ($p < 0,001$) a la hallada en los cánceres RE+ cuya concentración mediana fue de 668 f-mol/g PT.

REGF y tamaño tumoral

No se han encontrado diferencias significativas en la proporción de tumores REGF+ al clasificarlos según el tamaño tumoral. Tampoco se encontró correlación en la concentración de REGF respecto a la talla tumoral, aunque se observa una tendencia a presentar niveles más altos de REGF a medida que disminuye el tamaño del tumor. Así, en los cánceres RE- los niveles más altos se observaron en los T1 con una mediana de 2.094 f-mol/g PT frente a los T2 y T3 cuyos valores fueron de 1.044 y 867 f-mol/g PT, respectivamente. En los tumores RE+ se observó una tendencia similar con valores medianos en los T1 de 867 f-mol/g PT, en los T2 de 681 f-mol/g PT y los T3 de 403 f-mol/g PT.

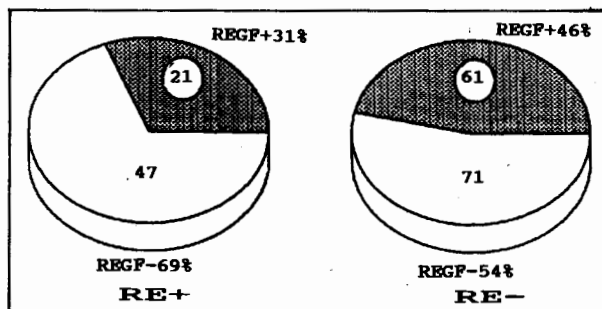


Fig. 2. REGF y RE. Carcinoma primitivo de mama. X^2 Yates = 4,36; $p < 0,05$.

REGF y afectación ganglionar

En los tumores RE- no se observó relación significativa entre la presencia de REGF y la infiltración ganglionar. Por contra, en las muestras RE+ la afectación ganglionar ha sido mayor en los tumores REGF+. Así en los tumores RE+ se detectó la presencia de REGF en 17 de 39 casos (43,6%) con N+, frente a sólo 6 de 36 (16,7%) en los casos N- ($p < 0,05$).

La concentración de REGF en los cánceres RE- fue mayor en los casos N+ (mediana 1.298 f-mol/g PT) que en los N- (mediana 952 f-mol/g PT), aunque no de forma estadísticamente significativa. En los tumores RE+ las concentraciones de REGF fueron semejantes en los casos con y sin afectación nodal.

REGF y metástasis

En los cánceres RE- se encontró REGF en 67 de los 140 casos estudiados sin metástasis (48%) frente a los 3 REGF+ de los 5 casos con enfermedad metastásica (60%). En los tumores RE+ se encontró REGF en 21 de 71 pacientes MO (30%), mientras que en los M1 se detectó REGF en 2 de los 4 casos (50%). La concentración de REGF presentó niveles similares tanto para los casos con afectación metastásica como sin ella, independientemente del status RE.

REGF y grado de desdiferenciación histológica

Se observó una mayor proporción de tumores REGF+ en los RE- y con índice de Scarff-Bloom II

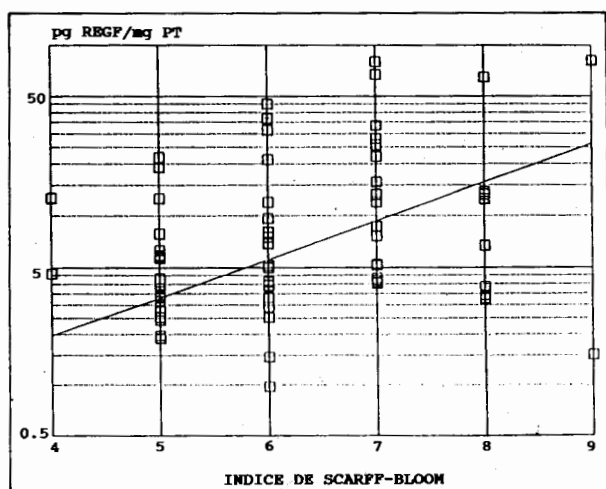


Fig. 3. REGF e indiferenciación. Carcinoma primitivo de mama. Coeficiente de correlación de Spearman = 0,37; $p = 0,0018$.

($p < 0,05$). En los cánceres RE+ la proporción encontrada en los tres grados de desdiferenciación no varió significativamente. La concentración de REGF en los tumores RE- fue menor en los casos con índice de Scarff-Bloom I, con un valor mediano de 945 f-mol/g PT, siendo en los casos con índices II y III de 1.262 y 1.166 f-mol/g PT, sin alcanzar significación estadística. En los tumores RE+ se observó una tendencia similar con valores medianos de REGF de 455 f-mol/g PT en los casos con índices de Scarff-Bloom I y 694 y 708 f-mol/g PT en los índices II y III, respectivamente, sin alcanzar tampoco valor estadístico significativo. Sin embargo, al correlacionar el logaritmo de la concentración de REGF y el índice de Scarff-Bloom encontrado en los cánceres RE- y RE+ se obtuvo un coeficiente de correlación de Spearman (r_s) estadísticamente significativo ($r_s = 0,25$, $p < 0,05$) (fig. 3).

REGF en tumores secundarios

De 25 carcinomas secundarios estudiados se detecta la presencia de REGF en 2 de los 10 casos de metástasis en la segunda mama, ambos RE+, con unos valores medianos de 735 f-mol/g PT.

De los 10 casos de recidiva local, todos RE-, 6 fueron REGF+ (60%) con una mediana de 2.127 f-mol/g PT. En los ganglios metastásicos axilares o supraclav-

culares se encontró REGF en 6 de los 6 casos (100%), siendo todos ellos RE-.

Al comparar los resultados obtenidos en los tumores secundarios con los de los carcinomas primitivos no se encontraron diferencias significativas en la proporción de tumores REGF+, independientemente del status RE, aunque en los casos RE- la presencia de REGF es mayor en los carcinomas secundarios (63%) que en los primitivos de mama (48%). Tampoco se encontraron diferencias significativas al comparar las concentraciones medianas de REGF, tanto en los tumores RE- como en los RE+.

REGF e histopatología

Se detectó la presencia de REGF en todos los tipos histológicos del cáncer de mama, a excepción de los carcinomas lobulillares.

DISCUSION

En el presente estudio se ha encontrado una proporción de tumores REGF+ del 43%, lo que concuerda con lo obtenido por la mayoría de autores.^{7, 11, 22} También se encontró, como muchos autores han publicado, una relación inversa entre la presencia de REGF y RE.^{8, 9, 10} Asimismo, igual que en otros estudios se ha observado una concentración de REGF significativamente mayor en los tumores RE- que en los RE+.^{10, 11} Esta relación inversa entre REGF y RE en la célula cancerosa no se presenta en la célula normal, en la que se manifiestan ambos tipos de receptores, pero con cantidades menores de REGF que en la célula transformada.²³ Esta pérdida de RE y el incremento de REGF podría interpretarse como un mecanismo de regulación anormal propio de las células malignas.

No se encontró relación entre la presencia de REGF y el tamaño tumoral, coincidiendo con la mayoría de estudios.^{8, 11} Sólo un autor encuentra mayor contenido de REGF en los tumores mayores de 4 cm.¹²

La presencia de REGF en los ganglios es superior a la encontrada en el tejido mamario, habiéndose detectado en todos los casos analizados que además no expresaron RE, coincidiendo con la mayoría de autores que encuentran REGF en un elevado porcentaje de metástasis axilares y una relación inversa entre la presencia de REGF y de RE.^{8, 11} Además, también en-

cuentran una tendencia a mayores niveles de REGF en el tejido linfático metastásico que en el carcinoma primitivo, como ocurrió en este estudio, aunque sin alcanzar significación estadística.

En el presente estudio se constató una mayor proporción de casos REGF+ en aquellos tumores RE+ que mostraron infiltración ganglionar de forma estadísticamente significativa. Otros autores también encuentran una mayor proporción de REGF en los casos con afectación ganglionar, aunque no lo relacionan con la presencia o no de RE.¹¹ Este hallazgo de mayor afectación ganglionar en los cánceres REGF+/RE+ que en los REGF-/RE+ apoyaría la hipótesis de dos patrones diferenciados de comportamiento de los cánceres RE+, aquellos que son REGF- que tendrían una evolución más benigna, y los REGF+ que seguirían un curso más agresivo, como constata la mayor afectación nodal. Además cabría suponer que fuesen los REGF+/RE+ el subgrupo de casos RE+ que no responde al tratamiento con tamoxifeno.¹⁴

El escaso número de metástasis estudiadas no permiten obtener conclusiones; sin embargo, se ha constatado la tendencia a las metástasis viscerales de los tumores REGF+, mientras que los casos RE+ tienden a metastatizar a nivel óseo, tal como se ha reseñado en otros estudios.¹⁴

Se ha encontrado una mayor proporción de tumores REGF+ en aquellos cánceres con grado de dediferenciación II y III evaluados según el índice de Scarff-Bloom. Estos resultados coinciden con otros autores,^{10, 13} aunque en otros estudios no se constató tal relación.⁹ Además en el presente trabajo se demostró una relación significativa entre el grado de indiferenciación y la concentración de REGF.

Se detectó la presencia de REGF en todos los tipos histológicos del cáncer de mama, a excepción del carcinoma lobular, coincidiendo con los hallazgos de Skoog.⁹

REFERENCIAS

1. James R, Bradshaw RA. Polypeptide growth factors. *Ann Rev Biochem* 1979; 48: 259-281.
2. Cohen S, Taylor JM. Part I. Epidermal growth factor: chemical and biological characterization. Recent progress in hormone research 1973; 30: 533-550.
3. Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem* 1962; 237: 1555-1562.
4. Gregory H. Isolation and structure of urogastrone and its relationship to epidermal growth factor. *Nature* 1975; 257: 325-327.
5. Goustin AS, Leof EB, Shipley GD et al. Growth factors and cancer. *Cancer Research* 1986; 46: 1015-1029.
6. Con Winkler R. Paracrine action of transforming growth factors. En Alberti KGM, Besser GM, et al. *Clinics in Endocrinology and Metabolism. Paracrine control*. London, Philadelphia, Toronto, WB Saunders Company 1986; vol 15, núm. 1.
7. Sainsbury JPC, Malcolm AJ et al. Presence of epidermal growth factor receptor as an indicator of poor prognosis in patients with breast cancer. *J Clin Pathol* 1985; 38: 1225-1228.
8. Sainsbury JRC, Fardon JR, Sherbet GV, Harris AL. Epidermal-growth-factor receptors and oestrogen receptors in human breast cancer. *Lancet* 1985; 1: 364-366.
9. Skoog L, Macias A et al. Receptors for EGF and oestradiol and thymidinekinase activity in different histological subgroups of human mammary carcinomas. *Br J Cancer* 1986; 54: 271-276.
10. Delarue JC, Friedman S et al. Epidermal growth factor receptor in human breast cancer: correlation with estrogen and progesterone receptors. *Breast Cancer Res Treat* 1988; 11: 173-178.
11. Battaglia F, Polizzi G et al. Receptors for epidermal growth factor and steroid hormones in human breast cancer. *Oncology* 1988; 45: 424-427.
12. Spitzer E, Koepke K, Kunde D, Grosse R. EGF binding is quantitatively related to growth in node-positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*; 1988, 12: 45-49.
13. Grimaux M, Romain S et al. Prognostic value of epidermal growth factor receptor in node-positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1989; 14: 77-90.
14. Nicholson S, Sainsbury JRC et al. Expression of epidermal growth factor receptors associated with lack of response to endocrine therapy in recurrent breast cancer. *Lancet* i: 182-185.
15. Taylor JM, Mitchell WM, Cohen S. Epidermal growth factor. Physical and chemical properties. *J Biol Chem* 1972; 247: 5928-5934.
16. Kudlow EJ, Cheung CYM, Borge JD. Epidermal growth factor stimulates the synthesis of its own receptor in a human breast cancer cell line. *J Biol Chem* 1986; 261: 4134-4136.
17. Carpenter G. Receptor for epidermal growth factor and other polypeptide mitogens. *Ann Rev Biochem* 1987; 56: 881-914.
18. Contor L, Lamy F et al. Differential protein phosphorylation in induction of thyroid cell proliferation by thyrotropin, epidermal growth factor, or phorbol ester. *Mol Cell Biol* 1988; 8: 2494-2503.
19. Scarff RW, Torloni H. Histological typing of breast tumours. *International Histological Classification of tumours* 1968; 2: 17.
20. International Union Against Cancer, TNM Classification of malignant tumours 1982; 7-53.
21. Bloom HJG, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer. *Br J Cancer* 1957; 11: 359-377.
22. Davidson NE, Gelmann EP, Lippman ME, Dickson R. Epidermal growth factor receptor gene expression in estrogen receptor-positive and negative human breast cancer cell lines. *Mol Endo* 1987; 1: 216-223.
23. Barker S, Panahy JR, Puddefoot AW, Vinson GP. Epidermal growth factor receptor and oestrogen receptors in the non-malignant part of the cancerous breast. *Br J Cancer* 1989, 60: 673-677.