

Biomarcadores en el pronóstico y respuesta al tratamiento en cáncer mamario

Raquel Gerson,* Alberto Serrano,* Alberto Villalobos,** Ernesto Sánchez-Forghach,* Carlos Sánchez-Basurto,*** Ángel Murillo,*** Carlos Ortiz-Hidalgo****

Recepción versión modificada 23 de Abril del 2001; aceptación 28 de mayo del 2001

Resumen

Propósito: Determinar el valor pronóstico de c-erbB-2, p53, receptores hormonales y angiogénesis, sobre tiempo libre de recurrencia y respuesta al tratamiento en cáncer de mama.

Pacientes y Métodos: Mujeres con diagnóstico histológico de cáncer mamario y determinación inmunohistoquímica de factores biológicos. Se registraron variables clínicas e histológicas, factores moleculares, tiempo libre de recurrencia y respuesta al tratamiento.

Resultados: 101 pacientes, edad 51.98 ± 11.5 años; tiempo de seguimiento de 32.52 ± 24.3 meses. Recurrencia en 31 (30.69%), 15 (48.33%) con tumor mayor a 2.1cm. 18 (58.07%) con receptores de estrógeno positivos y 19 (61.29%) de progesterona; 20 (64.51%) expresaron ce-erbB-2, 18 para p53; promedio de microvasos 24.48 ± 17.27 . Fue significativa la asociación de tamaño tumoral a recurrencia, $p = 0.008$. La prueba Kruskal-Wallis no mostró diferencia significativa al correlacionar tiempo libre de supervivencia y factores biológicos. 77.41%, recibieron hormonas y la respuesta en los casos con receptores estrogénicos positivos mostró una $p = 0.059$, y a quimioterapia en angiogénesis menor de 40 vasos/campo $p=0.024$.

Conclusiones: El tamaño tumoral tiene implicaciones pronósticas. Existe clara tendencia positiva con p53 y mayor densidad de microvasos. Valor predictivo de respuesta con receptores estrogénicos para hormonoterapia, de angiogénesis para la quimioterapia. Estos constituyen indicadores de tratamiento y sugieren posibles asociaciones terapéuticas.

Palabras clave: Factores pronóstico, biomarcadores, recurrencia, cáncer de mama.

Summary

Purpose: To determine the prognostic value of c-erbB-2, p53, hormone receptors and angiogenesis, on recurrence free time and its relationship to treatment in breast cancer patients.

Methods: Women with histologic diagnosis of breast cancer and immunohistochemical determination of biologic factors. Clinic, histologic, molecular factors and recurrence free time were registered.

Results: 101 patients, ages 51.98 ± 11.5 years. Follow-up 32.52 ± 24.3 months. Tumor recurred in 31, (30.69%); 15 (48.33%) had tumor size above 2.1cm, 19 (61.29%) showed positive estrogen receptors and 18 (58.07%) for progesterone; 20 (64.51%) to c-erbB-2 expression (64.51%); 18 to p53; average microvessels 24.48 ± 17.27 . Tumor size related to recurrence, $p = 0.008$. Kruskal-Wallis test did not show a difference when correlating survival free time and biologic factors. 77.41% received hormones; 20 (64.5%) chemotherapy (61.29%); 19 (61.29%) radiotherapy. Response prediction to hormones with estrogen receptor positive, $p = 0.059$; to chemotherapy in angiogenesis under 40 vessels/field = 0.024.

Conclusions: Tumor size has prognostic implications. A clear positive tendency was observed with p53 and higher microvessel density. Estrogen receptors offer predictive response value to hormone treatment and lower vascular density to chemotherapy, treatment indicators of possible therapeutic association.

Key words: Prognostic factors, biomarkers, recurrence, breast cancer.

* Servicio de Oncología, Hospital General de México.

** Hospital ABC.

*** Hospital de México.

**** Departamento de Patología, Hospital ABC.

Correspondencia y solicitud de sobretiros: Raquel Gerson, Hospital General de México, Dr. Balmis 148 Col. Doctores. México D.F. 06660.

Introducción

En México el cáncer de mama (CM) representa la segunda neoplasia más frecuente en la mujer, con una incidencia de 18.5 por 100 mil habitantes.¹ En los Estados Unidos de América constituye la primera causa de muerte en mujeres de 40 a 55 años de edad.² Cada año son diagnosticadas más de 180 mil con CM y se estima que más de 40 mil de ellas morirán de esta enfermedad.³

Para el pronóstico de la neoplasia mamaria se han considerado diversos factores; éstos incluyen fundamentalmente los clínicos como edad del paciente, estado menopáusico, tamaño tumoral, involucro ganglionar, formación de microtúbulos, número de mitosis y grados nuclear e histológico. Existen además elementos moleculares que ahora están en proceso de ser mejor comprendidos, los que podrán determinar de manera precisa e individualizada la evolución de la neoplasia.

En el fenotipo del CM existen dos características importantes: la virulencia, que constituye la velocidad del crecimiento de la enfermedad y la metastagenicidad, que ordena la propagación a distancia de la neoplasia. Los marcadores moleculares permiten distinguir entre esos dos fenotipos tumorales.⁴

A través de estudios inmunobiológicos, se ha pretendido identificar a la población de pacientes con CM de mayor virulencia que pueda obtener mayor beneficio de los tratamientos; así como aquellas enfermas que portan tumores de menor virulencia que no requieran someterse a los riesgos que implican las terapias citotóxicas que acarrear efectos secundarios considerables.

Con esta orientación, el estudio de los tumores mamarios se enfoca a la búsqueda de las alteraciones biológicas específicas que determinan su comportamiento clínico e influencia en la respuesta al tratamiento, de tal manera que se convierta en la expresión de nuevas modalidades de terapia individualizada: éstos son los denominados biomarcadores, que son los factores pronóstico. Entre ellos se encuentran la oncoproteína c-erbB-2, la proteína supresora p53, los receptores de estrógeno (RE) y progesterona (RP) y la neoformación vascular o angiogénesis (ANG). Se estima que estos elementos juegan un papel importante en el

proceso de determinación de la expresión fenotípica del comportamiento biológico y contribuyen a obtener una mejor comprensión del marco en que se desarrolla el tumor.

El c-erbB-2 también conocido como el oncogén neu, HER-2 o MAC 117. Se trata de una glicoproteína transmembrana de 185 a 190 mil daltons con actividad de tirosin-cinasa y homóloga, en el 50% de la secuencia de aminoácidos, al receptor del factor de crecimiento epidérmico.⁵⁻⁷ Esta glicoproteína ocupa un lugar importante en el crecimiento, proliferación, grado de invasividad y diferenciación del CM; asimismo, su sobre-expresión se relaciona con un pronóstico adverso en la evolución de la neoplasia.

El gen que codifica para la proteína p53, se localiza en el cromosoma 17. Es un gen supresor de tumores y se tiene evidencia de que participa en el control de la transcripción, ciclo celular y la apoptosis.⁸

Tanto los RE como los RP influyen en la regulación del crecimiento y diferenciación celular del tejido mamario. Sus efectos son mediados por receptores específicos que se fijan a sus respectivos ligandos que los transportan hacia el núcleo celular y predicen una respuesta favorable a la manipulación hormonal.⁹

En relación a la ANG, se ha demostrado que las neoplasias no tienen la capacidad de alcanzar tamaños mayores a 2 ó 3 mm, ni la potencia de metastatizar, sin la estricta necesidad de formación de nuevos vasos sanguíneos.¹⁰ Se conoce que esta actividad angiogénica puede ser inducida directamente por sustancias secretadas por los tumores.¹⁰⁻¹³

Lo anterior fundamenta la importancia de los marcadores biológicos de la neoplasia, así como la necesidad de contar con mejores elementos de juicio para el pronóstico para poder determinar las rutas de la terapia individual, que pueda ofrecer al paciente menor toxicidad con mayor beneficio.

El propósito de este trabajo es, entonces, determinar el impacto que tienen en el pronóstico del CM la oncoproteína ce-rbB-2, la proteína supresora p53, el estado de los receptores hormonales y la ANG, expresados sobre el tiempo libre de recurrencia (TLR), así como la relación que estos factores guardan como elementos de predicción de la respuesta terapéutica.

Pacientes y métodos

Se trata de un estudio clínico, observacional, retrospectivo y transversal, en el que se incluyeron mujeres con CM, en todas las etapas clínicas, atendidas en los hospitales General de México, ABC y Hospital de México, de enero de 1989 a diciembre de 1999. Se excluyeron pacientes con seguimiento menor a 2 meses y aquéllas en que se desconoció la expresión de alguno de los marcadores biológicos en estudio.

En todos los casos incluidos, se consideraron variedad histológica, etapa clínica conforme la clasificación TNM (T = extensión del tumor primario, N= ausencia o presencia de metástasis en ganglios linfáticos regionales, M= ausencia o presencia de metástasis a distancia), lado afectado, tamaño tumoral, ganglios axilares negativos y positivos, expresión oncogén c-erbB-2, proteína p53; determinación cualitativa y cuantitativa de RE, RP y ANG. Se revisó el tiempo libre de recurrencia (TLR), considerado como el lapso transcurrido desde el diagnóstico hasta el momento en que se detectó la recurrencia tumoral, la modalidad terapéutica proporcionada; hormonal, radio o quimioterapia. El tratamiento hormonal fue a base de antiestrógenos con tamoxifeno y en el de quimioterapia se utilizó FAC (5FU, doxorubicina y ciclofosfamida). La actualización del estado clínico se hizo por visita médica.

Determinación inmunohistoquímica de los biomarcadores

En los cortes de tejido embebido de parafina, obtenidos del tumor primario, se detectaron los marcadores biológicos. Para ello, en los bloques de parafina se efectuaron cortes de 2 micras. Se procedió al desparafinado mediante 2 lavados de xilol, 2 más con alcohol absoluto y otros 2 con alcohol al 96%, rehidratándose con agua destilada. La recuperación de proteínas se llevó a cabo mediante la aplicación de una solución de citrato amortiguadora y la exposición a temperatura máxima en olla de presión.

Para marcar las proteínas de la muestra, se expusieron a los anticuerpos primarios contra RE (Dako 1 1D5 1:100), PR (Cell Marque 1 HTRA2-

3 1:50), gen supresor p53 (Dako 1 D07 1:300), CD31 (angiogénesis) (Cell Marque 1:100), c-erbB-2 (Cell Marque 1 CBI 1 1:50). Se utilizó en todos ellos el recuperador antigénico Declere® y el inmunoteñidor automático DAKO autostainer. Para conseguir la fijación y amplificación de la respuesta, se expusieron a un anticuerpo secundario biotinilado para posteriormente conseguir la formación de complejos con estreptoavidina - peroxidasa. La fase de revelado se realizó con la administración de diaminobenzidina, seguido de lavado y de contraste mediante hematoxilina de Meyer.

Análisis estadístico

La asociación individual de cada biomarcador con el TLR se realizó mediante la prueba de Chi cuadrada y Kruskal-Wallis. El TLR observado en cada factor fue comparado con la prueba T de Student no pareada y la comparación de TLR entre expresiones negativas y positivas fue analizada con la prueba de Kruskal-Wallis. La asociación entre la respuesta terapéutica y la expresión de los biomarcadores se llevó a cabo mediante Chi-cuadrada. Se realizaron curvas de recurrencia con la técnica del producto del límite de Kaplan-Meier para cada uno de los factores evaluados; las diferencias de los resultados de las curvas fueron analizadas mediante la prueba de rangos logarítmicos.

Resultados

Se estudiaron 101 mujeres con edad promedio 51.98 ± 11.51 años, rango 28 a 84; 42 de ellas menores y 59 mayores de 50 años; con tiempo de seguimiento de 32.52 ± 24.32 meses, rango 8 a 132. En la población analizada el tamaño tumoral promedio fue 2.75 ± 1.92 cm, rango 0.5 a 14 cm; la microdensidad vascular promedio fue 23.8 ± 13.1 vasos por campo 40x; mientras que entre las que cursaron con recurrencia se registró edad promedio 52.9 ± 13.8 años, rango 32 a 80; tamaño tumoral de 2.1 a 5 cm en 48.33% y la densidad vascular promedio fue 24.48 ± 17.27 vasos por campo 40x, rango 4 a 100.

Cuadro I. Datos generales de la población

	Población general		Pacientes con recurrencia	
	n=pts	%	n=pts	%
Edad				
<50 años	42	41.6	14	45.17
>50 años	59	58.4	17	54.83
Tamaño tumoral				
0.1 - 1 cm	8	7.92	1	3.22
1.1 - 2 cm	23	22.77	4	12.9
2.1 - 5 cm	52	51.48	15	48.33
> 5 cm	5	4.95	3	9.67
No conocido	13	12.87	8	25.8
Estado ganglionar				
Negativo	38	37.62	10	32.35
1 a 4 (+)	24	23.76	6	19.35
5 a 9 (+)	14	13.86	5	16.12
> 10 (+)	17	16.83	7	22.58
No conocido	8	7.92	3	9.67
Estadio clínico				
EC I	19	18.81	3	9.67
EC IIA	33	31.67	8	25.8
EC IIB	29	28.71	9	29.03
EC IIIA	1	0.99	-	-
EC IIIB	5	4.95	3	9.67
EC IV	1	0.99	-	-
No conocido	13	12.87	8	25.8
Oncogén c-erbB-2				
Positivo	71	70.29	20	64.51
Negativo	30	29.7	11	35.48
Proteína p53				
Positivo	64	63.36	18	58.07
Negativo	37	36.63	13	41.93
Receptores de estrógeno				
Positivo	70	69.3	19	61.29
Negativo	31	30.7	12	38.71
Receptores de progesterona				
Positivo	67	66.33	19	61.29
Negativo	34	33.66	12	38.71
Angiogénesis				
< 20 vasos	44	43.56	17	57.83
20 a 40 vasos	43	42.57	9	29.09
> 40 vasos	14	13.86	5	16.12

El cuadro I, muestra comparativamente los datos generales de la población en estudio y de aquellas que mostraron recurrencia. Se aprecia que la recurrencia fue más frecuente ante tamaño tumoral de 2.1 a 5 cm, 48.33%; involucro ganglionar axilar, > 10 ganglios afectados, 22.58%; etapa clínica III, 25.8; así como ANG menor a 20 vasos x campo 40x. No se observó diferencia significativa al comparar edad, lado afectado, estirpe histológica, c-erbB-2, p53, RE ni RP.

De los 31 casos de recurrencia (30.69%), el TLR fue 30.7 ± 20.85 meses, rango 2 a 84. Ésta

se ubicó a nivel local en 12 pacientes, (38.7%); contralateral en 3,(9.67%) y sistémica en 16 (51.6%). Entre las recurrencias sistémicas se identificaron 15 óseas, 5 en pulmón, 4 en hígado, 2 en encéfalo, 2 en ganglios supraclaviculares y una en retina. De las pacientes con recurrencia, actualmente 9 (29.03%), se encuentran sin actividad tumoral y 13 (41.93%), con actividad. Nueve fallecieron (29.03%), 8 por causa directa a la enfermedad neoplásica y una por insuficiencia respiratoria secundaria a efectos tardíos de la radioterapia, sin evidencia de actividad tumoral.

Cuadro II. Biomarcadores y tiempo libre de recurrencia

	N=pts	promedio (meses)	DE	p
Oncogén c-erbB-2				
Positivo	20	27.8	18.9	0.297
Negativo	11	36.1	24	
Proteína p53				
Positivo	18	29.1	23.2	0.605
Negativo	13	32.1	17.6	
Receptores de estrógenos				
Positivo	19	34.3	20.7	0.236
Negativo	12	25.1	20.6	
Receptores de progesterona				
Positivo	19	34.3	20.7	0.236
Negativo	12	25.1	20.6	
Angiogénesis				
Menor a 20 vasos	16	29.2	18.1	0.897
20 a 40	11	32.9	22.6	
Más de 40	4	30.7	30.9	

DE = Desviación estándar; p= Valor de p por Chi-cuadrada y Kruskal-Wallis.

El tratamiento utilizado en las 101 pacientes consistió de tamoxifeno, solo o en combinación con otras alternativas 52.47%; radioterapia a 40.59% y fueron tratadas con quimioterapia 70.9%. En el grupo de pacientes con recurrencia recibieron tamoxifén, (77.41 %), 20 quimioterapia, (64.5%) y 19 radioterapia, (61.29%).

El TLR entre las diferentes categorías de c-erbB-2, p53, receptores hormonales y ANG se muestra en el cuadro II, donde se aprecian cifras similares entre las variables, sin alcanzar diferencia estadísticamente significativa; sin embargo se observa una clara tendencia en relación a p53 y alta densidad de microvasos.

El análisis estadístico de la posible correlación entre edad al diagnóstico, tamaño tumoral, estado ganglionar, y factores moleculares, mostró diferencia significativa para el tamaño tumoral, ($p=0.008$), con implicaciones en el pronóstico, (Cuadro III). No se registró diferencia significativa en el resto de los factores.

En el cuadro IV se observa que para el caso de tratamiento hormonal, el estado negativo de los RE se asocia con menor probabilidad de respuesta y mayor recurrencia, ($p = 0.059$); en cuanto a la influencia de estos factores sobre la radioterapia, ninguno logró significancia estadística; mientras que para la quimioterapia, la ANG menor a 40 vasos por campo 40x mostró significancia estadística en la predicción de mayor respuesta a quimioterapia ($p = 0.024$).

Las figuras 1, 2 y 3 muestran la probabilidad de recurrencia, mediante el método de Kaplan-Meier, categorizada para el estado negativo o positivo de c-erbB-2, p53, receptores hormonales y ANG; se aprecian comportamientos similares en las curvas, con mayor probabilidad de recurrencia después del quinto año de seguimiento, lo cual fue confirmado por la prueba de rangos logarítmicos.

Discusión

En este trabajo cada uno de los biomarcadores estudiados se analizan en cuanto al comportamiento biológico con las implicaciones pronóstico y su representatividad como pauta para la selección de tratamiento.

Se detectó la expresión del c-erbB-2 en 70.29% de los casos estudiados, una frecuencia más elevada de la reportada en otros estudios, su valor predictivo ha sido discutido especialmente en meta-análisis.¹⁴⁻¹⁶ No se observó una clara asociación entre la expresión de c-erbB-2 y el TLR, $p= 0.297$. Cabe señalar que Slamon,¹⁹ en un grupo de pacientes con involucro ganglionar axilar, reportó que la amplificación de esta oncoproteína se asocia estrechamente con una reducción en el TLR y tiempo de supervivencia; sin embargo, nuestros datos en los que sólo se evaluó la expresión de este oncogén coinciden con otros en los que el valor pronóstico de c-erbB-2 no ha quedado bien definido.^{14,17-19}

Cuadro III. Correlación entre marcadores biológicos y otros factores pronóstico con el tiempo libre de recurrencia

Factores evaluados	n=pts	Recurrencias	Valor de p
Edad			
< 50 años	42	14	0.933
> 50 años	59	17	
Tamaño tumoral			
0.1- 1 cm	8	1	0.008*
1.1 - 2 cm	23	4	
2.1 - 5 cm	52	15	
> 5 cm	5	3	
No conocido	13	8	
Estado ganglionar			
Negativo	38	10	0.211
1 - 4 (+)	24	6	
5 - 9 (+)	14	5	
> 10 (+)	17	7	
No conocido	8	3	
Oncogén C-erbB-2			
Positivo	71	20	0.542
Negativo	30	11	
Proteína p53			
Positivo	64	18	0.609
Negativo	37	13	
Receptores de estrógeno			
Positivo	70	19	0.645
Negativo	31	12	
Receptores de progesterona			
Positivo	67	19	0.627
Negativo	34	12	
Angiogénesis CD34			
< 20 vasos x campo 40x	44	17	0.627
20 a 40 vasos	43	9	
> 40 vasos	14	5	

*Diferencia estadísticamente significativa

Cuadro IV. Valor predictivo de respuesta terapéutica

Biomarcador	Hormonal (n=24 pts.)*	Radioterapia (n=19 pts.)*	Quimioterapia (n=20 pts.)*
c-erbB-2	0.756	0.174	0.328
p53	0.798	0.184	0.535
R. Estrógeno	0.059	0.321	0.535
R. Progesterona	0.493	0.321	0.915
Angiogénesis	0.674	0.319	0.024**

* Número de pacientes con recurrencia que fueron tratados con modalidad única o combinada

** Valor estadísticamente significativo. Resultados obtenidos por Chi-cuadrada.

Tampoco se detectó la potencialidad predictiva de la expresión de c-erbB-2 sobre la respuesta a tamoxifeno, quimio o radioterapia, $p = 0.756, 0.328$ y 0.174 , respectivamente, en contraste con otro estudio,²¹ en el que se reportó que pacientes con amplificación positiva, muestran menores índices de respuesta a tamoxifeno y resistencia aumenta-

da a ciclofosfamida, metotrexate,^{21,22} mientras que exhibe mayor sensibilidad a doxorubicina y paclitaxel.^{23,24} Por otro lado se describe que los niveles circulantes de dominio extracelular de la proteína pueden - para algunos autores- predecir la respuesta a hormonas.²⁵ Lo anterior sugiere que el valor pronóstico de c-erbB-2 tanto para TLR como para la respuesta al tratamiento se asocia más con su amplificación y no con su expresión.

A pesar de las controversias respecto al valor predictivo de c-erbB-2 para la recurrencia y sobrevida, esta oncoproteína ha sido objeto de estudio como blanco terapéutico, en virtud de que sus influencias sobre el desarrollo y progresión de la neoplasia son reconocidas. Recientemente, por medio del uso de anticuerpos monoclonales dirigidos contra esta proteína, se ha tratado de bloquear su amplificación y con ello sus funciones favorecedoras del crecimiento tumoral.^{26,27}

La expresión del gen supresor p53 está relacionada con el control del crecimiento tumoral.²⁸⁻³⁰ En la muestra estudiada se encontró que 63.3% de los casos mostraron expresión positiva a la proteína p53, así mismo aquellas pacientes en las que se detectó p53 tuvieron un mayor TLR que las p53 negativas, aunque estadísticamente no se encontró una asociación significativa ($p = 0.605$). Estos resultados podrían deberse al tipo de anticuerpo contra p53 que se utilizó, que detecta tanto a la proteína normal como a la mutada y la segunda no es funcional.²⁹ Aun cuando algunos investigadores reportan un valor predictivo de p53 con la respuesta a la terapia,^{15,29} nosotros no encontramos asociación de la expresión de p53 con la respuesta a tamoxifeno, quimioterapia o radioterapia, coincidiendo con los resultados de otros autores.³¹

Existe cierta asociación entre la positividad de p53 con otras alteraciones biológicas de pronóstico adverso. Esta proteína modula la expresión de un inhibidor natural de la angiogénesis: la trombospondina-1 lo que sugiere que con mutaciones de p53, se encuentra mayor vascularidad tumoral.³² Es pertinente anotar que tanto p53 como la mayor neovascularidad, muestran una clara tendencia a vincularse a pronóstico adverso respecto a TLR.

A pesar de los distintos resultados reportados acerca del valor predictivo de p53 sobre el TLR, la sobrevida y la respuesta terapéutica, es manifiesto que p53 y sus alteraciones impactan significa-

tivamente en la génesis y progresión de las neoplasias, por lo que se considera como un blanco terapéutico atractivo. De hecho se ha buscado restaurar la actividad natural de p53 por medio de la manipulación genética, pero los resultados aún son prematuros.⁸

La asociación entre el estado de los receptores hormonales con las manifestaciones en el comportamiento tumoral ha sido ampliamente reportada. Tumores con RE muestran una mayor diferenciación, ADN diploide, bajo potencial de proliferación y menor propensión a la diseminación visceral; mientras que en ausencia del receptor, se aprecian neoplasias poco diferenciadas, aneuploides, con alta fracción proliferativa y mayor frecuencia de metástasis a encéfalo e hígado.^{15,33-35}

En nuestro análisis, 70% de la población estudiada mostró RE y 66% RP cifras que se encuentran dentro del rango reportado en otros trabajos.^{15,17,29} Sin embargo, la presencia o ausencia de estos receptores no tuvo impacto pronóstico estadísticamente significativo sobre el TLR, aunque sí se observó una tendencia a presentar un mayor TLR en las pacientes con RE± o RP±. Se considera que la expresión positiva de los RE y RP tiende a predecir un mejor TLR y supervivencia (20,36,37), aunque algunos autores (38) identifican el estado de los RE como un factor pronóstico independiente para el TLR.

En la investigación realizada, los RE predijeron la respuesta a la terapia hormonal, como era de esperarse por los datos ya reportados.^{20,39,40}

Las células epiteliales mamarias tumorales y no tumorales, en forma variable expresan la presencia del factor transformante del crecimiento beta-2, el cual funciona como regulador autocrino del crecimiento de dichas células. La sobre-expresión de este factor se relaciona con la resistencia al efecto de los antiestrógenos lo que sugiere que pacientes con CM con RE positivos que manifiestan sobre-expresión del factor beta-2, reciban otro tipo de terapia hormonal.⁴¹

Se ha descrito una asociación estrecha entre la densidad microvascular, el involucro ganglionar axilar, tamaño tumoral y grado histológico así como también con factores como edad y estado menopáusico.^{12,42,43} Encontrándose que la recurrencia es más temprana en las pacientes con tumores más vascularizados.

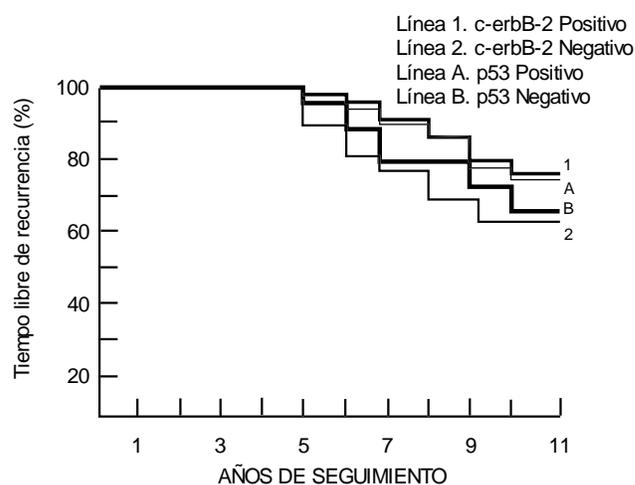


Figura 1. Curva de Kaplan-Meier para recurrencia c-erbB-2 y p53.

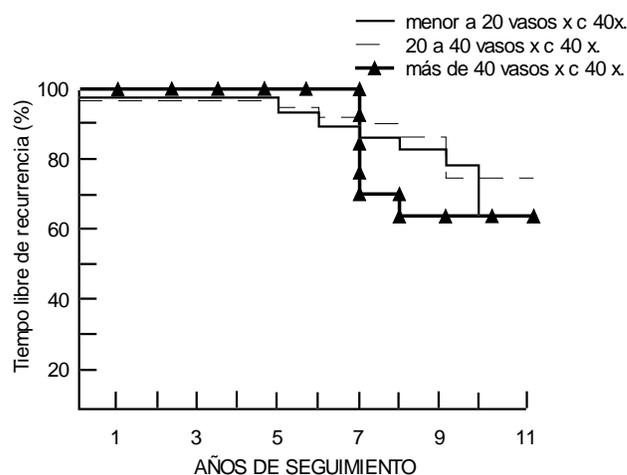


Figura 2. Curva de Kaplan-Meier para recurrencia angiogénesis.

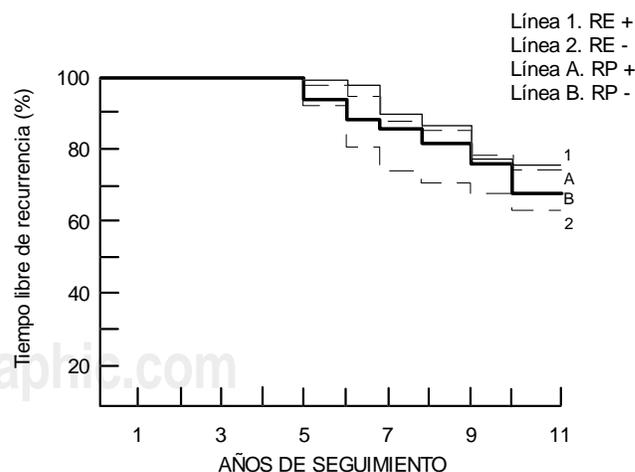


Figura 3. Curva de Kaplan-Meier para recurrencia receptores de estrógenos y de progesterona.

En el presente estudio no encontramos una relación estadísticamente significativa entre la actividad angiogénica y el TLR. Sin embargo las pacientes con más de 40 vasos por campo muestran una mayor recurrencia en periodos más cortos. En estudios semejantes al nuestro,^{14,44} tampoco se detectó una relación entre la actividad angiogénica y los tiempos de recurrencia y supervivencia. La influencia de la angiogénesis sobre el pronóstico de las pacientes con neoplasia mamaria no sólo ha sido reportada entre pacientes con involucro ganglionar axilar, sino también en pacientes con estado axilar negativo,^{12,45,46} así como en mujeres, con enfermedad fibroquística que presentan mayor densidad microvascular y un mayor riesgo de CM.⁴⁷

En nuestra investigación encontramos que la angiogénesis tuvo valor predictivo sobre la respuesta terapéutica a quimioterapia, efecto observado por otros autores.²⁹ Este hecho podría reflejar una mejor respuesta en tumores con menor propensión a metastatizar y sugiere el utilizar una combinación de terapia sistémica con antiangiogénicos, en casos de densidad vascular alta para controlar el crecimiento y la proliferación tumoral.

Los resultados obtenidos advierten que la angiogénesis es un importante factor pronóstico, con implicaciones biológicas a estudiar y aplicar. Existen agentes antiangiogénicos en estudio, entre ellos los inhibidores de colagenasa, agentes que desplazan la curva de disociación del oxígeno y métodos génicos.⁴⁸⁻⁵³

Por último cabe señalar que el tamaño tumoral fue un factor que mostró tener influencia pronóstico en relación al TLR ($p=0.008$), lo que confirma los hallazgos de otros estudios.^{4,54,55} Esto pudiera representar, el período de la evolución de la neoplasia con repercusiones sobre el comportamiento biológico y la aplicación de nuevas rutas en la terapia antineoplásica. La proclividad de metástasis y el ritmo en el cual se desarrollan, que representa su virulencia, aumentan con el tamaño tumoral y el número de ganglios involucrados.⁵⁶

El CM es una enfermedad frecuente cuyo comportamiento es heterogéneo, existen claras diferencias tanto en virulencia como en la recurrencia; por ello, es importante identificar a la población de pacientes con mayor agresividad que pueda beneficiarse de tratamientos más efectivos, así como aquellas enfermas que portan tumores de menor

patogenicidad que no requieran someterse a los riesgos que implican las terapias citotóxicas que acarrear efectos secundarios considerables. Es necesario detectar biomarcadores que puedan utilizarse en el pronóstico de TLR y que ayuden a tomar la decisión de iniciar una terapia individualizada.

Los hallazgos de este trabajo se apoyan básicamente en su significancia biológica y las implicaciones en el perfil del desarrollo y evolución de la neoplasia mamaria. La falta de significancia estadística sugiere se deberá continuar con observaciones más prolongadas.

Referencias

1. Registro Histopatológico de Neoplasias en México. Departamento de Epidemiología de la Secretaría de Salud. 1996.
2. **Harris JR, Lippman ME, Veronesi U, et al.** Breast Cancer. N Engl J Med 1992;327:319-328.
3. **Smith BL.** Approaches to breast cancer staging. N Engl J Med 2000;342:580-81.
4. **Heimann R, Ferguson D, Recant WM, et al.** Predicción del fenotipo metastático del cáncer mamario con los marcadores histológicos tumorales. Cancer J Sci 1997;3:224-29.
5. **van der Vijver MJ, Petersen JL, Mooi WJ, et al.** Neu-Protein overexpression in breast cancer association between comedo-type ductal carcinoma *in situ* and limited prognostic value, in stage II breast cancer. N Engl J Med 1988;319:1239-45.
6. **Gasparini G, Gullick WJ, Bevilacqua P, et al.** Human breast cancer: prognostic significance of the c-erbB-2 oncoprotein expression compared with epidermal growth factor receptor DNA polymerase and conventional pathologic features. J Clin Oncol 1992;10(5):686-95.
7. **King CR, Kraus MH, Aaronson SA.** Amplification of a novel c-erbB-2 related gene in a human mammary carcinoma. Science 1985;229:974-76.
8. **Hall P.** p53: The challenge of linking basic science and patient management. The Oncologist 1999;3:218.
9. **Kastan MB.** p53 and ATM: Tumor suppressor genes that have an impact on therapeutic responses. Sem Oncol 1997;53.
10. **Pudla JM.** Tumor associated angiogenesis: mechanisms, clinical implications, and the therapeutic strategies. Sem Oncol 1997;24(2):203-18.
11. **Klagsbrun M, Amore PA.** Regulators of angiogenesis. Ann Rev Physiol 1991;53:217-39.
12. **Weidner L.** The relationship of tumor angiogenesis and metastasis with emphasis on invasive breast carcinoma. Advances in Pathology and Laboratory Medicine, vol. 5 1992,101-21.

13. **Watson JC, Redmann JG, Meyers MO, et al.** Breast cancer increases initiation of angiogenesis without accelerating neovessel growth rate. *Surgery* 1997;122: 508-13.
14. **Ross JS, Fletcher JA.** The HER-2neu oncogen in breast cancer: Prognostic factor, predictive factor and target for therapy. *The Oncologist* 1998;3:237.
15. **Sahin AA, Valero V.** Prognostic factors for invasive breast cancer. In: *Breast Cancer*. Ed. Eva Singletary. Springer, New York, 1999:93-119.
16. **Baselga J, Seidman A, Rosen PP.** HER2 overexpression and paclitaxel sensitivity in breast cancer: therapeutic implications. *Oncology* 1997;11(supl 2):43.
17. **Gasparini G, Weidner N, Bevilacqua P, et al.** Tumor microvessel density, p53 expression, tumor size, and peritumoral lymphatic vessel invasion are relevant prognostic markers in node negative breast carcinoma. *J Clin Oncol* 1994;12:454.
18. **Weiss MC, Kelsten.** Biologic markers of breast cancer prognosis. In: *Breast cancer treatment. A comprehensive guide to management*. Ed. Fowble B, Goodman R. Mosby Yearbook, Saint Louis Mo. 1991.
19. **Slamon DJ, Clark GM.** Amplification of c-erbB-2 and aggressive human breast tumors. *Science* 1988;240:1795-1798.
20. **Ravdin PM.** Prognostic factors in breast cancer. *Educational Book, ASCO* 1997;217-27.
21. **Seshadri R, Fergaira FA, Horsfall DJ, et al.** Clinical significance of HER-2/neu oncogene amplification in primary breast cancer. *J Clin Oncol* 1993; 11(10): 1936-1942.
22. **Felipe E, Del Campo JM, Rubio D, et al.** Overexpression of c-erbB-2 in epithelial ovarian cancer. Prognostic value and relationship with response to chemotherapy. *Cancer* 1995;75:2147-52.
23. **Ravdin PM, Green S, Melink-dorr T.** Prognostic significance of progesteron receptor levels in estrogen receptor positive in patients with metastatic breast cancer treated with tamoxifen *J Clin oncol* 1992;10:1284.
24. **Leitzel K, Teramoto Y, Konrad K, et al.** Elevated serum c-erbB-2 antigen levels and decreased response to hormone therapy of breast cancer. *J Clin Oncol* 1995;13:1129.
25. **Yamauchi H, O'Neill A, Gelman R, et al.** Prediction of response to antiestrogen therapy in advanced breast cancer patients by pretreatment circulating levels of extracellular domain of the HER-2/C-neu protein. *J Clin Oncol* 1997;15:2518.
26. **Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, et al.** Efficacy and safety of Herceptin (Humanized anti-her-2 antibody) as a single agent in 222 women with HER-2 overexpression who relapsed following chemotherapy for metastatic breast cancer. *Proc ASCO* 1998;97a:376.
27. **Siamon D, Jones L, Shak S, et al.** Addition of herceptin (Humanized anti-HER-2 antibody) to first line chemotherapy for HER-2 overexpressing metastatic breast cancer) markedly increases anticancer activity. *Proc ASCO* 1998;98a:377.
28. **Nigro JM, Baker JS, Preisinger, et al.** Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumor types. *Nature* 1989;342:105.
29. **Gasparini G, Toi M, Gion M, et al.** Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein in node negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:139.
30. **Phillips A. NK, Ozelik H, et al.** Frequency of p53 mutations in breast carcinoma from ashkenazi jewish carriers of BRCA-1 mutations. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:469.
31. **Mackay HJ, Cameron D, Rahilly M, et al.** Reduced MLH1 expression in breast tumors after primary chemotherapy predicts disease free survival. *J Clin Oncol* 2000;18:87.
32. **Dameron KM, Volpert OV, Tainsky MA, et al.** Control of angiogenesis in fibroblasts by p53 regulation of thrombospondin-1. *Science* 1994;265:1582-85.
33. **Insa A, Lluch A, Prosper F, et al.** Prognostic factors predicting survival from first recurrence in patients with metastatic breast cancer: analysis of 439 patients. *Breast Cancer Research and Treatment* 1999;67.
34. **Barbi GP, Marroni P, Bruzzi F, et al.** Correlation between steroid hormone receptors and prognostic factors in human breast cancer. *Oncology* 1987;44:265.
35. **Shingakowinta A, Potter HG, Buroker TR, et al.** Estrogen receptor and the natural course of breast cancer. *Ann Surg* 1976;183:184.
36. **Mason BH, Holdaway IM, Nullins PR, et al.** Progesteron and estrogen receptors as prognostic variables in breast cancer. *Cancer Research* 1983;43:2985-90.
37. **Allegra J, Lippman M, Simon R, et al.** Association between steroid hormone receptor status and disease free survival interval in breast cancer. *Cancer Treat Rep* 1979;63:1271-77.
38. **Kinne DW, Ashikari R, Butler A, et al.** Estrogen receptor protein in breast cancer as a predictor of recurrence. *Cancer* 1981;47:2364.
39. **Robertson JRF, Cannon PM, Nicholson RI, et al.** Oestrogen and progesteron receptors as prognostic variables in hormonally treated breast cancer. *International J Biological Markers* 1996;11:29.
40. **Pichon MF, Broet P, Magdelenat H, et al.** Prognostic value of steroid receptors after long term follow-up of 2257 operable breast cancers. *Br J Cancer* 1996;73: 1545.
41. **Arteaga CL, Koli KM, Dugger TC, et al.** Reversal of tamoxifen resistance of human breast carcinomas *in vivo* by neutralizing antibodies to transforming growth factor-beta. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:46.
42. **Horak E, Leek R, Klenk N, et al.** Angiogenesis assessed by platelet 1 endothelial cell adhesion molecule antibodies, as indicator of node metastases and survival in breast cancer. *Lancet* 1992;340:1120-24.
43. **Gerson R, Serrano A, Villalobos A, et al.** Angiogenesis in breast cancer. *Proc ASCO* 1999;629a:2433.
44. **Van Hoef MEHM, Knox WF, Dhesi SS, et al.** Assessment of tumor vascularity as a prognostic factor in lymph node negative invasive breast cancer. *Eur J Cancer* 1993;29A:1141-45.
45. **Hall NR, Fish DE, Hunt N, et al.** Is the relationship between angiogenesis and metastasis in breast cancer real? *Surg Oncol* 1992;1:223-29.

46. **Heimann R, Ferguson D, Powers C, et al.** Angiogenesis as a predictor of long-term survival for patients with node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:1764-9.
47. **Guinebretiere JM, Monique GL, Gavaille A, et al.** Angiogenesis and risk of breast cancer in women with fibrocystic disease. *J Natl Cancer Inst* 1994;86(8):635.
48. **Ellis LM, Fidler IJ.** Angiogenesis and breast cancer metastasis. *The Lancet* 1995;346:388-90.
49. **Harris AL, Fox S, Leek R, et al.** Breast cancer angiogenesis: Therapy target and prognostic factor. *Eur J Cancer* 1995;31A(5):831-32.
50. **Eckhardt SG, Pluda JM.** Development of angiogenesis inhibitors for cancer therapy. *Invest New Drugs* 1997;15:1-3.
51. **Locopo N, Fanelli M, Gasparini G.** Clinical significance of angiogenic factors in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1998;52:159-73.
52. **Balsan A, Maier JA, Colnaghi MI, Menard S.** Correlation between tumoral vascularity, vascular endothelial growth factor production by tumor cells, serum vascular endothelial growth factor levels, and serum angiogenic activity in patients with breast carcinoma. *Lab Invest* 1999;79:897-902.
53. **Heimann R, Ferguson D, Gray S, Hellman S.** Assessment of intratumoral vascularization (angiogenesis) in breast cancer prognosis. *Breast Cancer Res Treat* 1998;52:147-58.
54. **Quiet CA, Ferguson DJ, Weichselbaum RR, et al.** Natural history of node negative breast cancer: A study of 826 patients with long term follow-up. *J Clin Oncol* 1995;13:1144.
55. **Quiet CA, Ferguson DJ, Wichselbaum RR, et al.** Natural history of breast cancer; the curability of small cancers with a limited number of positive nodes. *J Clin Oncol* 1996;14:3105.
56. **Heimann R, Helíman S.** Clinical progression of breast cancer malignant behaviour : what to expect and when to expect it. *J Clin Oncol*; 2000;18:591-599.