

# Receptores de Estrógeno en Cáncer Mamario

## Demostración Inmunohistoquímica con Anticuerpos Monoclonales

J.F. PATIÑO, M.D., FACS (Hon.), MSCC., F. CAVANZO, M.D.

**Palabras Claves:** Receptores hormonales: de Estrógeno, de Progesterona, de Prolactina; Anticuerpos monoclonales, Coloración de RE por inmunohistoquímica, Tejido tumoral, Cáncer de seno, Hormonoterapia.

*La determinación de receptores hormonales puede significar una guía útil en el uso de la terapia endocrina del cáncer mamario, especialmente en casos avanzados con enfermedad recurrente o metastásica. La presencia de actividad de receptores hormonales, entre ellos los receptores de estrógeno (RE), de progesterona (RPg) y de prolactina, es una condición necesaria, aunque no absoluta, para la respuesta hormonal del carcinoma mamario. Aproximadamente 2/3 de los carcinomas del seno son RE (+); las lesiones metastásicas, un poco menos, y algunas lesiones benignas también son RE (+). Entre 50% y 70% de los cánceres mamarios RE (+) responden a la terapia endocrina, mientras sólo 5% a 10% de los tumores RE (-) responden a ella. Una determinación RE (-) no es contraindicación absoluta de terapia endocrina. Los cánceres ricos en RE exhiben tasas superiores de supervivencia y, en general, tienen un pronóstico más favorable.*

*Se presenta el novedoso método inmunohistoquímico de determinación de RE en preparaciones histológicas convencionales con anticuerpos monoclonales, que se realiza por primera vez en nuestro medio.*

### INTRODUCCION

El tratamiento del cáncer mamario mediante manipulación endocrina ha sido utilizado desde hace casi 100 años. En 1895 Beatson realizó la primera ooforectomía y, entre sus pacientes, una mujer con cáncer diseminado obtuvo muy favorable resultado con desaparición del tumor a los ocho meses de operada (1), según cita de Hubay y col. en una reciente revisión (2).

Puesto que la naturaleza del comportamiento biológico del cáncer mamario es muy variada, parece conveniente definir características específicas de cada tumor con el objeto de poder individualizar y hacer más racional el tratamiento. La determinación de receptores hormonales puede significar una guía útil en el uso de terapia endocrina, especialmente en casos avanzados con enfermedad recurrente o metastásis. Es por ello que la determinación de receptores de estrógeno y progesterona ha venido a convertirse en una rutina en muchos servicios quirúrgicos.

El método fue descrito por Jensen y asociados (3) en 1971 en un estudio sobre la predicción de la respuesta del carcinoma mamario a la adrenalectomía.

La presencia de actividad de receptores hormonales, entre ellos receptores de estrógeno (RE), progesterona (RPg) y prolactina, es una condición necesaria, aunque no absoluta, para la respuesta hormonal del carcinoma mamario.

Aproximadamente 2/3 de los carcinomas del seno son RE (+); las lesiones metastásicas un poco menos, y algunas lesiones benignas igualmente son RE (+). Es interesante que hasta un 40% de los melanomas malignos también exhiben receptores de estrógeno.

Entre 50% y 70% de los cánceres mamarios RE (+) responden a la terapia endocrina, mientras sólo 5% a 10% de los tumores RE (-) responden a ella.

Los tumores son una mezcla heterogénea de células RE (+); además, la muestra, que puede contener cantidades variables de estroma y otros tejidos, puede no ser un reflejo adecuado en cuanto a la capacidad de respuesta endocrina. Por consiguiente una determinación RE (-) no es contraindicación absoluta de terapia endocrina.

Se halla actividad de receptores de progesterona (RPg) en 2/3 de los tumores RE (+) y en  $\pm$  5% de los RE (-). El mayor índice de respuesta a la terapia endocrina se encuentra en los tumores RE (+) y RPg (+).

La determinación de RE tiene un valor pronóstico independiente del estado de los ganglios y aun del tamaño del tumor (4). Los cánceres ricos en RE exhiben superiores tasas de supervivencia libre de enfermedad y de sobrevida global, con menores porcentajes de recurrencia temprana que aquellos pobres en RE (2). En general los pacientes con tumores RE (-) parecen sufrir de una enfermedad "más maligna". Análisis recientes han señalado que en estos pacientes el nivel de RPg es un factor de predicción de la supervivencia libre de enfermedad (2).

La determinación de RE es útil para predecir la respuesta en cualquier tipo de manipulación hormonal, incluyendo la ooforectomía, adrenalectomía e hipofisectomía o el tratamiento con antiestrógenos, así como las modalidades de tratamiento endocrino aditivo (administración de progestina, estrógeno, andrógeno) (2). Diversos estudios han demostrado que el nivel cuantificado de RE está directamente relacionado con la tasa de respuesta a la terapia endocrina.

Doctores, José Félix Patiño, Jefe del Dpto. de Cirugía, Francisco J. Cavanzo, Jefe del Dpto. de Patología y Laboratorios, Centro Médico de los Andes, Bogotá, Colombia.

Se ha demostrado que los RPg tienen un valor de predicción similar al de los RE (5), y que la conversión de RPg (+) a (-) en el curso de la evolución clínica de un cáncer mamario es un signo ominoso (6).

El 75% de los tumores que son RE(+) y RPg(+) exhiben regresión a la terapia endocrina (4).

A pesar del entusiasmo, ciertamente justificado desde el punto de vista de la investigación científica, sobre los receptores hormonales, recientes informes sobre ensayos clínicos prospectivos, señalan que las tasas de respuesta global con el uso prolongado de tamoxifén se presentan en forma independiente de los niveles de receptores de estrógeno, y aun del estado de los ganglios y de la edad (pre o postmenopáusicas) de la paciente. Tal es el caso con el estudio institucional que se desarrolla en Inglaterra desde hace 10 años en más de 1.200 mujeres (7).

## MÉTODOS

Hasta hace poco tiempo las determinaciones de receptores se realizaban exclusivamente en citosoles preparados de tejidos frescos provenientes de la biopsia o del espécimen de la mastectomía. Actualmente se ha demostrado la factibilidad de la determinación de RE en preparaciones histopatológicas convencionales, y aun en citología por aspiración con aguja fina, técnicas que exhiben notables ventajas.

Las proteínas receptoras de esteroideos son termolábiles y pueden alterarse con las demoras que frecuentemente ocurren entre la resección del espécimen, su congelación y el transporte al laboratorio. Por ello se hacen necesarias especiales precauciones en el manejo de los especímenes (8, 20). Se sabe que el uso de la electrocoagulación causa proteólisis y puede producir una falsa disminución de los niveles de las proteínas receptoras (9), y se ha demostrado una disminución, que puede ser moderada o notoria, en los niveles de receptores de estrógeno entre los especímenes de biopsia pre-mastectomía y los de la mastectomía (10, 15), probablemente por efecto de la desvascularización (10). Otros autores no han comprobado este hallazgo y piensan que tales variaciones se deben más bien a la heterogeneidad de los tejidos tumorales y a errores de muestreo (11). La controversia persiste (9, 12, 15).

Hoy es poco frecuente realizar lo que fue tradicional en el pasado ante una mujer con una masa mamaria: la biopsia por congelación bajo anestesia general, y si ésta era positiva, proceder a la práctica de la mastectomía. Más bien se prefiere la aspiración con aguja fina para citología; la biopsia con aguja Tru-cut, la biopsia con anestesia local, la tumorectomía con anestesia general (23), como procedimientos sencillos, de consultorio o de cirugía ambulatoria, los cuales permiten establecer el diagnóstico y discutir con la paciente y con el grupo interdisciplinario de oncología la mejor alternativa de tratamiento, incluyendo las modernas opciones quirúrgicas que hacen posible la conservación del seno.

Las determinaciones de los receptores de estrógeno y de progesterona en biopsias o en especímenes de mastectomía implican la realización del procedimiento operatorio en forma rápida y expedita, sin usar electrocauterio, y evitando prolongada desvascularización. El espécimen debe ser prontamente transportado sin demora al laboratorio y congelado según el protocolo de cada hospital.

El conocimiento de los anticuerpos monoclonales y entre ellos el desarrollado por Greene y colaboradores (14, 15), capaces de reaccionar contra RE de cáncer mamario, puede llegar a substituir a los métodos de análisis bioquímico (4). Aquel método, que demuestra que la localización intracelular de los RE ocurre en el núcleo, ha confirmado la naturaleza muy heterogénea de la población celular del cáncer mamario, con muy variados contenidos de RE.

Informes recientes han confirmado el valor práctico de la coloración inmunohistoquímica con el anticuerpo monoclonal H222 SP (15, 16) con una sensibilidad del 85% y una especificidad del 93% (15). Esta técnica permite determinaciones semicuantitativas de los receptores con resultados en todo comparables a los obtenidos con las técnicas convencionales inmunoenzimáticas o de radioinmunoanálisis (17, 19). El espécimen ideal para esta determinación es la biopsia excisional del tumor mamario, la cual permite la inequívoca correlación histológica e inmunohistoquímica. Puede practicarse también en biopsias menores, Tru-cut, o en aspiraciones con aguja fina (4). Estas ventajas seguramente harán más accesible la determinación de los RE y podrá substituir las técnicas actualmente en boga. La mayoría de los informes se refieren al uso de cortes histológicos en tejidos congelados, lo cual limita un tanto el número de casos susceptibles de ser analizados; recientemente, mediante el uso del anticuerpo monoclonal D75P3, se han determinado RE en tejidos fijados y procesados en parafina, con resultados similares a los encontrados en tejidos congelados (21). Esto haría aún más fácil el procedimiento y realmente accesible a la mayoría de los laboratorios de patología.

## PROTOCOLO

Los Departamentos de Cirugía y de Patología del Centro Médico de los Andes han acordado el siguiente protocolo de diagnóstico de lesiones mamarias sospechosas de carcinoma:

1. La presencia de una masa o de sintomatología mamaria es indicación para realizar mamografía.

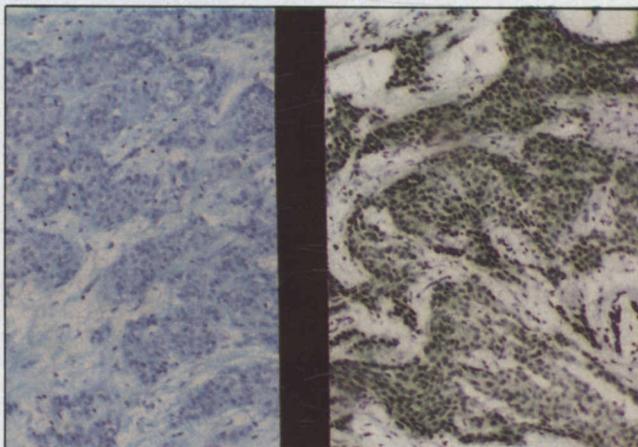


Fig. 1. La determinación de RE con anticuerpos monoclonales directamente en preparaciones histológicas, permite una correlación ideal, y absoluta certeza de positividad en el tejido tumoral. A la izquierda la imagen histológica del tumor en coloración de H y E; a la derecha los nidos de las células tumorales positivas para RE.

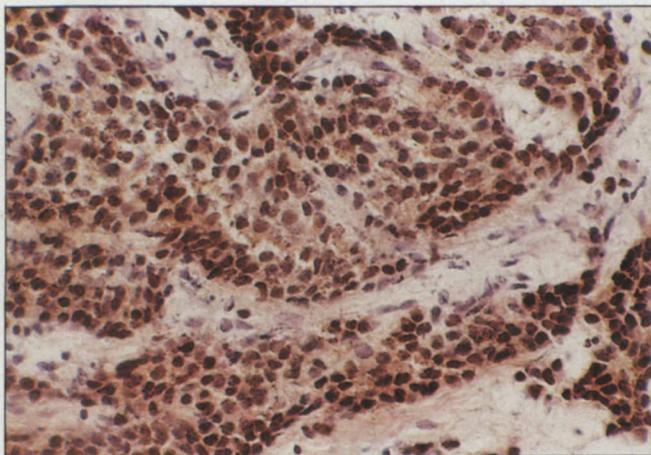


Fig. 2. La positividad nuclear evidenciada por el color marrón intenso, indica la presencia de RE en las células neoplásicas.

2. La masa demostrada en el examen clínico y/o la mamografía es sometida a aspiración con aguja fina para citología, a biopsia Tru-cut o a biopsia excisional o tumorectomía bajo anestesia local o general.
3. Los especímenes destinados a la determinación de RE y RPg deben ser preferiblemente los obtenidos por biopsia excisional o por tumorectomía.
4. Inmediatamente después de obtenido el espécimen, éste debe ser devuelto en gases humedecidas con solución salina e inmerso en un recipiente con hielo para ser transportado en el menor tiempo posible al laboratorio de patología.
5. En el laboratorio, un segmento del tumor se congela en nitrógeno líquido y se almacena en el refrigerador de ultrabaja temperatura (-70°C), para el posterior análisis de receptores.
6. El resto del espécimen se coloca en formol neutro para el procesamiento histopatológico convencional.

Con el objeto de ilustrar la determinación de RE en preparaciones histológicas convencionales, presentamos las Figuras 1, 2 y 3 que muestran la coloración de RE por inmunohistoquímica (ER-ICA) Monoclonal Kit (Abbott Laboratories, North Chicago, IL), utilizando el anticuerpo monoclonal H222SP, que se realiza por primera vez en nuestro medio. La paciente, una mujer de 68 años, presentó una masa sospechosa en mamografía de 2 cm. de diámetro. La biopsia con aguja Tru-cut y la aspiración con aguja fina para citología, confirmaron que se trataba de una lesión maligna. La paciente fue sometida a mastectomía parcial (cuadrantecto-

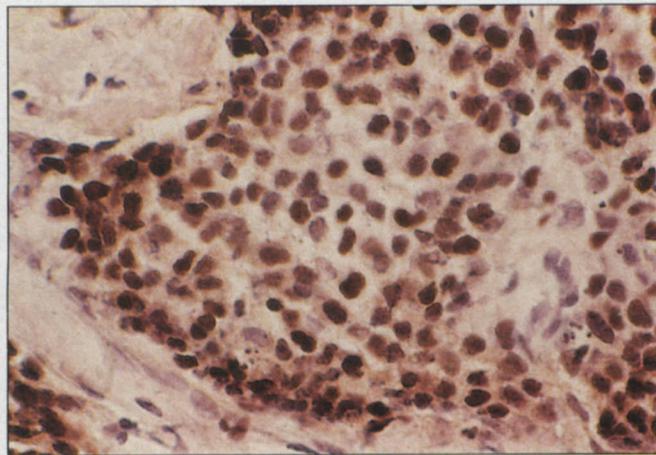


Fig. 3. El porcentaje de células con núcleos positivos y la intensidad de los mismos son fácilmente evidenciables. En este caso particular, el resultado final mostró niveles correspondientes de RE muy por encima de 15 fmol. x mg. que predicen respuesta terapéutica. La técnica con anticuerpos monoclonales se utilizó por primera vez en esta paciente en nuestro medio.

mía) con disección de los niveles I y II de la axila, para continuar con radioterapia. Las coloraciones ER-ICA con anticuerpo monoclonal han sido efectuadas en las preparaciones convencionales en tejido congelado, cortes tomados directamente del tumor, en el Laboratorio de Patología del Centro Médico de los Andes. Para realizar la determinación semicuantitativa se tienen como variables el porcentaje de núcleos positivos y su intensidad, expresada en grados de 0 a 4, mediante sencillas fórmulas como la sugerida por W. Jonat y Col. (17).

#### ABSTRACT

The determination of hormonal receptors can be a useful guide for prescribing endocrine therapy in patients with breast cancer, especially in those with advanced, recurrent, or metastatic disease. The presence of hormonal receptor activity-estrogen, progesterone or prolactin receptors - is a necessary condition, although not an absolute one, the hormonal response of mammary cancer. About 2/3 of breast cancers are ER (+); metastatic lesions less so, but some benign lesions are also ER (+). Between 50% and 70% of ER (+) mammary cancers respond to endocrine therapy, while only 5% to 10% ER (-) tumors respond to this treatment modality. However, a negative ER determination is not an absolute contraindication to endocrine therapy. Breast cancers that are rich in ER exhibit higher survival rates and a generally more favorable prognosis. The novel immunohistochemical method for determination of ER in conventional histological preparations utilizing monoclonal antibody is presented. This method has been successfully utilized for the first time in our country.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Beatson, G.T.: On the treatment of non-operative cases of carcinoma of the mama: Suggestions for a new method with illustrative cases. *Lancet* 2: 104, 1886.
2. Hubay, C.A., Arafah, B., Gordon, N. H., et al.: Hormone receptors. An update and application. *Surg. Clin. North Am.* 64: 1155, 1984.
3. Jensen, E.V., Block, G.E., Smith, S., et al.: Estrogen receptor and breast cancer response to adrenalectomy. *En: Predict-*

- tion of Response in Cancer Therapy. Editado por T.C. Hall. Monograph 34, National Cancer Institute. National Cancer Institute. Bethesda, 1971.
4. Kiang, D.T.: The importance of hormone receptors and markers in breast cancer. En: *Advances in Breast and Endocrine Surgery*. Editado por J.S. Najarian y J.P. Delaney. Year Book Medical Publishers, Inc. Chicago, 1986.
  5. Clark, G.M., McGuire, W.L., Hubay, C.A., et al.: Progesterone receptors as prognostic factor in stage II breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 309: 1343, 1983.
  6. Gross, G.E., Clark, G.M., Chamese, G.C., et al. Multiple progesterone receptor assays in human breast cancer. *Cancer Res.* 44: 836, 1984.
  7. Wilson, A.J., Baum, M., Brinkley, D.M., et al.: Six-year results of a controlled trial of tamoxifen as a single adjuvant agent in management of early breast cancer. *World J. Surg.* 9: 756, 1985.
  8. Muschenaeim, F., Furst, J.L., Bates, H.A.: Increased incidence of positive tests for estrogen binding in mammary carcinoma specimens transported in liquid nitrogen. *Am. J. Clin. Pathol.* 70: 780, 1978.
  9. Rosenthal, L.J.: Discrepant estrogen receptor protein levels according to surgical technique. *Am. J. Surg.* 138: 680, 1979.
  10. Teicher, I., Tinker, A., Auguste, L.J., et al.: Effect of operative devascularization on estrogen and progesterone receptor levels in breast cancer specimens. *Surgery* 98: 784, 1985.
  11. Jokawatz, J.G., Cullen, M.L., Anderson, K.M., et al.: The stability of estrogen and progesterone receptors as an operative advantage in breast cancer. *Breast* 7: 2, 1981.
  12. Bridges, K.G., Keshgegian, A.A., Kumer, H.A., Neal, H.S.: Influence of surgical technique on estrogen and progesterone receptor determinations in breast cancer. *Cancer* 51: 2317, 1983.
  13. King, W.J., Greene, G.L.: Monoclonal antibodies localize estrogen receptor in the nuclei of target cells. *Nature* 307: 745, 1982.
  14. Perschuk, L.P.: Immunohistologic localization of estrogen receptors in breast cancer with monoclonal antibodies: correlation with biochemistry and clinical endocrine response. *Cancer* 55: 1513, 1985.
  15. Butler, J., Hieshima, A., Bernstein, D., et al.: Monoclonal antibody staining and impact of surgical technique and quantitation of steroid receptors in human breast cancer. *Am. J. Surg.* 154: 62, 1987.
  16. Flowers, J.L., Burton, G.V., Cox, E.B., et al.: Use of monoclonal antiestrogen receptor antibody to evaluate estrogen receptor content in fine needle aspiration breast biopsies. *Ann. Surg.* 203: 250, 1986.
  17. Jonat, W., Maass, H., Stenger, H.E.: Immunohistochemical measurement of estrogen receptors in breast cancer. *Cancer Res. (Suppl.)* 46: 429s, 1986.
  18. De Sombra, E.R., Thorpe, S.M., Rose, C., et al.: Prognostic usefulness of estrogen receptor immunocytochemical assay for human breast cancer. *Cancer Res. (Suppl.)* 46: 425s, 1986.
  19. Charpin, C., Martin, P.M., Jacquemier, J., et al.: Estrogen receptor immunocytochemical assay (ER-ICA): Computerized image analysis system, immunoelectron microscopy, and comparison with estradiol binding assays in 115 breast carcinomas. *Cancer Res. (Suppl.)* 46: 4271s, 1986.
  20. Bojar, H.: Quality control requirement in estrogen receptor determination. *Cancer Res. (Suppl.)* 46: 4249s, 1986.
  21. De Rosa, C.M., Ozello, L., Greene, G.L., Habif, D.V.: Immunostaining of estrogen receptor in paraffin sections of breast carcinomas using monoclonal antibody D75P3: Effects of fixation. *Am. J. Surg. Path.* 11: 943, 1987.
  22. McClelland, Richard A., Berger, Uta, Miller, Larry S., Powles, Trevor J., Jensen, Elwood V., Coombes, R. Charles: Immunocytochemical assay for estrogen receptor: relationship to outcome of therapy in patients with advanced breast cancer. *Cancer Res. (suppl.)* 46: 4241s, 1986.
  23. Fisher, B.: Reappraisal of breast biopsy prompted by the use of lumpectomy. *Surgical strategy.* *JAMA* 253: 3585, 1985.

# VIII CONGRESO LATINOAMERICANO DE CIRUGIA (FELAC)

Y

# XX CONGRESO VENEZOLANO DE CIRUGIA

---

Lugar: Hotel Caracas Hilton  
Marzo: 12 al 17 de 1989

---

**Informes:** Dr. Mario Rueda Gómez, Secretario Ejecutivo de la FELAC  
Calle 103 No. 15-46 - Tels.: 218-15-89 y 256-19-88  
Bogotá, D.E.