

REVISIÓN

Cáncer de mama invasivo. Aspectos clínicos, moleculares y genéticos.

Invasive breast cancer. Clinical, molecular and genetic aspects.

Scaglia, H.E.²; Lorusso, A.¹; Scaglia, J.³

¹ Laboratorio de Determinaciones Hormonales. Hospital Italiano "Humberto 1º" La Plata. Provincia de Buenos Aires.

² Docente de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires.

³ Laboratorio de Determinaciones Hormonales. Hospital Italiano "Humberto 1º" La Plata. Provincia de Buenos Aires.

Introducción

El cáncer de mama es la segunda causa de muerte en EE.UU.

A pesar de las modernas terapéuticas, de la tercera a la mitad de las pacientes que desarrollan la enfermedad, mueren por la misma.

La efectividad limitada de los tratamientos actuales, ha focalizado los esfuerzos en la prevención, para lo cual es importante el conocimiento de las anomalías biológicas que llevan a su desarrollo y progresión.

Desde el punto de vista de la evolución, el cáncer de mama invasivo se desarrolla gradualmente de lesiones precursoras microscópicamente. Estas lesiones son relativamente pequeñas, sólo una pequeña proporción de las mismas progresa a cáncer invasivo.

Muchas anomalías biológicas son silentes. Identificar las anomalías biológicas en lesiones premalignas permite conocer el riesgo de progresión a invasivo y prevenir antes que ocurra esta progresión.

Estos tipos de estudios resultan sumamente complejos. Los datos recopilados de la literatura, sobre cuyas bases se realiza esta presentación fueron ob-

tenidos evaluando distintos marcadores, empleando algunos de los siguientes protocolos:

a) Se estudiaron pacientes en período de seguimiento de 2 a 10 años que previamente tenían biopsia de mama sin cáncer invasivo

b) Se estudiaron lesiones adyacentes a la zona con cáncer invasivo

c) Se estudiaron carcinomas "in situ" con o sin la presencia de cáncer invasivo

d) Se compararon en número muy grande de pacientes la relación de los distintos marcadores como factores pronósticos de mama con o sin cáncer invasivo.

La patología mamaria la podemos dividir en :

- Neoplasmas benignos, pueden ser hiperplasia típica o atípica.

- Neoplasmas malignos no invasivos, como el carcinoma ductal "in situ" subdivididos en no comedo y comedo

- Carcinomas invasivos.

Basándose en las lesiones biológicas comunicadas en las distintas patologías mamarias, tomando al epitelio normal de la unidad terminal ductoglobular como un riesgo relativo de 1, el correspondiente a

Dirección Postal: Hugo E. Scaglia, Calle 59 # 969. (1900) La Plata, Provincia de Buenos Aires.

E-mail: iabe@speedy.com.ar

Palabras clave: Cáncer de mama, factores de riesgo, receptores hormonales, hormonodependiente, hormonoindependiente.

Key words: Breast Cancer, Risk Factors, Hormonal Receptors, Dependent Hormone, non Dependent Hormone.

Recibido: 27-04-05

Aprobado: 27-04-05

que cada una de estos estadios de la mama para evolucionar a cáncer invasivo, es:

- hiperplasia típica 2
- hiperplasia atípica 4-6
- carcinoma ductal "in situ", independientemente de comedo o no comedo, 10-12

Si analizamos azarosamente mamas y buscamos la incidencia randomizada, encontramos que un 30% de estas mamas tienen hiperplasia típica, 1-2% hiperplasia atípica, carcinoma "in situ" o carcinoma invasivo.

Pero si evaluamos la concurrencia de cáncer invasivo para cada una de estas patologías vemos que la concurrencia para la hiperplasia atípica, típica y el carcinoma ductal es del 50-90%¹⁻³. Estos resultados son consistentes con el razonamiento de que una proporción de las lesiones fueron incompletamente escindidas y que las lesiones residuales progresen a cáncer invasivo, o que las lesiones son marcadoras de otras anomalías que tienen la capacidad de progresar hacia esta patología.

En la tabla 1 resumimos estos conceptos.

Biomarcadores de lesiones precursoras de cáncer de mama invasivo:

Los resultados recopilados de la literatura evaluaron los biomarcadores en dos grupos de lesiones:

- mamas sin cáncer invasivo
- mamas con cáncer invasivo

Los biomarcadores que se estudiaron se muestran en la tabla 2.

I: Receptores hormonales

A: Receptores de estradiol:

EL estradiol está involucrado significativamente en la diferenciación y proliferación de las células epiteliales de la mama normal. También posee acciones importantes en otras células, por ejemplo en las células óseas, las células de la pared arterial, el sistema nervioso central, el endometrio, etc.

Un esquema del mecanismo de acción del estradiol involucrado en estas respuestas biológicas se muestra en la Fig. 1.

El estradiol biodisponible penetra a las células

del órgano blanco el cual se une a su receptor citoplasmático, con el cual se transporta al núcleo. En el núcleo interacciona con el receptor nuclear el cual se dimeriza. El estradiol unido al receptor dimerizado se une al genoma en un sitio aceptor del DNA. La interacción del estradiol en el DNA expresa distintas acciones biológicas. Una de ellas induce el RNAm para el receptor de progesterona, RNAm para proteínas que van a actuar en el hueso, las cuales están directamente relacionadas a los osteoblastos y a los osteoclastos, proteínas que actúan en la pared arterial y producen un factor que se llama factor relajante del endotelio entre otras.

Por otro lado tiene un efecto mitogénico, resultando de singular importancia ya que por este mecanismo acumula los daños genéticos randomizados de las células que se están replicando por acción del estradiol.

Además inducen genes reguladores tempranos los cuales expresan RNAm que transcriben y traducen Oncoproteínas, las que expresan genes de factores de crecimiento que van a inducir RNAm para la biosíntesis ribosomal de IGF1 y TGF β 1 y β 2 que inducen la multiplicación celular.

Expresión de receptor de estradiol en los distintos modelos morfológicos sin cáncer invasivo

En la fig. 2 se muestran los resultados obtenidos en la expresión del receptor de estradiol en distintas patologías mamarias: normales, hiperplasias típicas y atípicas, carcinoma ductal "in situ" y carcinoma invasivo.

Lo mostrado en dicha figura corresponde a resultados de estudios seleccionados sólo cuando la metodología fue inmunohistoquímica. Como puede verse:

- El receptor de estradiol se expresa en forma muy variada en la mama normal, pudiendo expresarse entre el 100% o el 25%⁴⁻⁵. Ésto indica la gran variabilidad de resultados obtenidos por diversos investigadores.
- La mama con hipertrofia típica expresa el receptor de estradiol en aproximadamente el 30% de los casos⁶.
- La hiperplasia atípica es la que en mayor proporción de todos los estadios de la patología mamaria se expresa el receptor.⁷
- Los estudios de la expresión del receptor en carcinomas ductal "in situ" son muy variados. Los resultados obtenidos se encuentran entre un 15-50%,

Tabla I. Factores de riesgo en la evolución del cáncer de mama

	Riesgo relativo	Incidencia randomizada	Concurrencia en Cáncer Invasivo
UNIDAD TERMINAL DUCTO / LOBULAR			
Epitelio normal	1	-	-
Neoplasmas benignos	Hiperplasia típica	30%	50% - 90%
	Hiperplasia atípica	4 - 6	50% - 90%
Neoplasmas malignos	Carcinoma ductal "in situ"	1 - 2%	50% - 90%
	a) no comedo b) comedo Carcinoma invasivo	-	1 - 2%

Tabla II. Biomarcadores de lesiones precursoras

Se evaluaron los biomarcadores en los dos grupos de lesiones: 1) En mamas sin Cáncer Invasivo
2) En mamas con Cáncer Invasivo

BIOMARCADORES

- I-** Receptores hormonales
 - a) Estrógenos
 - b) Progesterona
 - c) Prolactina
- II-** Grado de Proliferación
- III-** Contenido de DNA
- IV-** Oncogenes y Receptores de Factores de Crecimiento
 - a) c-erbB-2/HER-2
 - b) c-erbB1/Receptor de EGF
 - c) ras
 - d) myc
- V-** Factores de crecimiento
 - a) TGF α y β
 - b) IGF-1
- VI-** Genes supresores de tumores
p53
- VII-** Enzimas líticas
- VIII-** Otros

para el carcinoma ductal "in situ" en su variante comedo, y entre un 40-90% en la variante no comedo. ⁸⁻¹⁶

- En carcinoma invasivo se expresa el receptor

de estradiol, en un estudio en el 60% ¹⁷ y en otro el 70% ¹⁸.

Como puede observarse hay una sobreexpresión del receptor de estradiol en hiperplasias atípicas de mamas que no van a evolucionar a cáncer de mama invasivo.

En carcinoma "in situ" hay una mayor expresión en la variante comedo.

La expresión del receptor de estradiol en carcinoma no invasivo es similar a la de carcinoma invasivo, por lo cual no está claro el significado de la expresión de estradiol relacionado con la evolución del carcinoma mamario.

La expresión del receptor de estradiol en los carcinomas invasivos respecto a aquellos carcinomas invasivos en los que el mismo no se expresa, está asociado con: menor metástasis, mayor sobre vida, mejor respuesta al tratamiento hormonal.

Expresión del receptor de estradiol en los distintos modelos morfológicos con cáncer de mama invasivo

En la Fig. 3 mostramos los resultados obtenidos de distintas comunicaciones en este sentido, seleccionadas cuando se empleó como técnica de estudios la inmunohistoquímica. Como puede verse:

- Tal como se describió en la figura anterior, la mama normal expresa en forma muy variada el re-

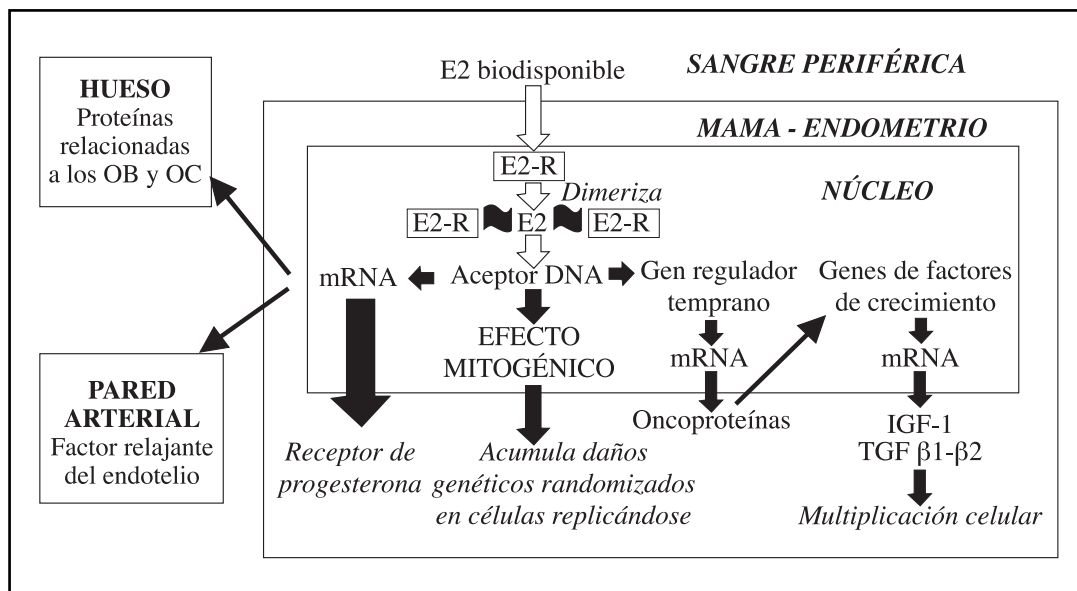


Figura 1: Mecanismo de acción del Estradiol en diversos tejidos periféricos, induciendo la síntesis de las principales proteínas oncogénicas y factores de crecimiento.

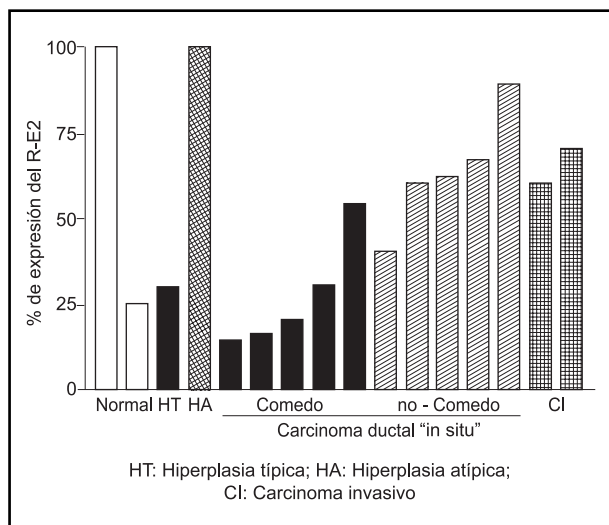


Figura 2: Porcentaje de la expresión del Receptor de Estradiol (R-E2) en epitelio mamario normal, en hiperplasia típica y atípica y en carcinoma "in situ" de tejido sin carcinoma invasivo. Cada barra representa un estudio individual. En el texto se identifican las citas bibliográficas correspondientes. Solo se seleccionaron estudios por inmuno-histoquímica. A los efectos de comparar, se muestran los resultados comunicados de dos estudios en cáncer de mama invasivo.

ceptor de estradiol.

- No hay estudios realizados en mamas con hiperplasia típica o atípica que hayan evolucionado a cáncer de mama invasivo.

- La expresión del receptor de estradiol en carcinoma "in situ" en pacientes que evolucionaron a cáncer invasivo no se expresa en la variante comedo y se sobreexpresa en la variante no comedo.

Se observó una sobreexpresión del receptor de estradiol en carcinoma "in situ" no comedo con cáncer invasivo, sin embargo hay un sólo estudio en la literatura ¹⁹ que comunica estos resultados. Los mismos deberán ser confirmados, en el futuro, en un mayor número de casos.

B- Receptor de Progesterona

Expresión del receptor de progesterona en distintos modelos morfológicos sin cáncer invasivo

La Fig. 4 muestra los resultados obtenidos en este sentido. Como puede verse:

- El receptor de progesterona se expresa en más del 75% en carcinomas "in situ" no comedo y no se expresa en la variante comedo, de pacientes que no evolucionaron a cáncer invasivo.
- Con respecto al cáncer invasivo, los distintos estudios muestran que el porcentaje de expresión del receptor de progesterona se encuentra entre un 40-70% ⁸⁻¹³.

No existen estudios que hayan relacionado el receptor de progesterona con los distintos modelos

morfológicos que evolucionaron a cáncer invasivo. La expresión del receptor de progesterona en el carcinoma invasivo respecto a los receptores de progesterona negativos está asociado de la misma forma que el estradiol a menor metástasis, mayor sobre vida y mejor respuesta a los tratamientos hormonales.

C- Receptor de prolactina

En la fig. 5 mostramos los resultados de los receptores de prolactina expresados con score de inmunocoloración versus los receptores de estradiol estudiados con la misma metodología, en pacientes con carcinoma de mama ²⁰.

Existe una gran variabilidad en la interrelación de ambos receptores. Sin embargo, un grupo de pacientes que no presentan receptores para estradiol tampoco los presentan para prolactina. Existe expresión del receptor de prolactina sin que se exprese el estradiol y viceversa, pero en la mayoría de los casos se demostró que los receptores de prolactina se encontraron en tumores de mama con receptores

positivos para estradiol o progesterona. Existen mutaciones activantes en el gen que expresa el receptor de prolactina, estas alteraciones pueden ser potencialmente oncogénicas.

Glasow y col. ²⁰ no detectaron mutaciones activantes del receptor de prolactina, por lo cual se puede concluir que la prolactina puede participar en el crecimiento y proliferación del tumor a través de su receptor funcional.

En la Fig. 6 mostramos el mecanismo de acción de la prolactina mediado por su receptor en células de cáncer de mama. La prolactina se une a su receptor. Una vez que interaccionó con él atrae una nueva molécula del receptor y se dimeriza. De esta forma se inicia una cadena de reacciones intracelulares que termina con la acción biológica de la hormona. La señal intracelular que inicia la respuesta biológica es la activación de la Jak 2 la cual dimeriza el STAT. Esta proteína dimerizada se transloca al núcleo y allí activa caminos de transcripción.

También por acción de la prolactina mediada por su unión al receptor se autofosforila en tirosina, amplificando la respuesta mediada por el Jak 2 y

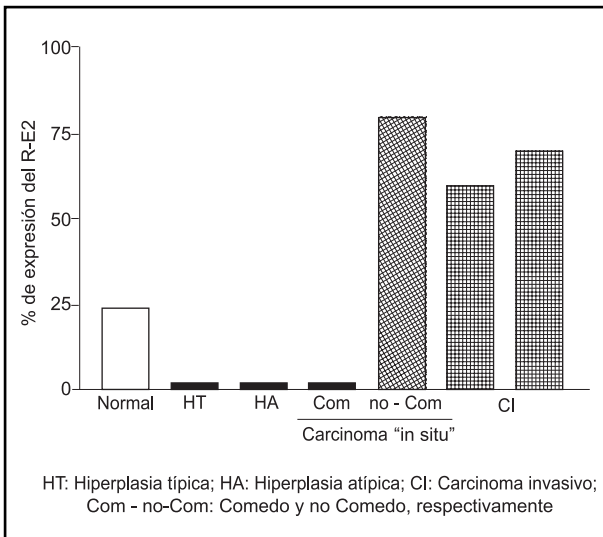


Figura 3: Porcentaje de la expresión del Receptor de Estradiol (R-E2) en epitelio mamario normal, en hiperplasia típica y atípica y en carcinoma "in situ" de tejido con carcinoma invasivo. Cada barra representa un estudio individual. En el texto se identifican las citas bibliográficas correspondientes. Sólo se seleccionaron estudios por inmunohistoquímica. A los efectos de comparar, se muestran los resultados comunicados de dos estudios en cáncer de mama invasivo.

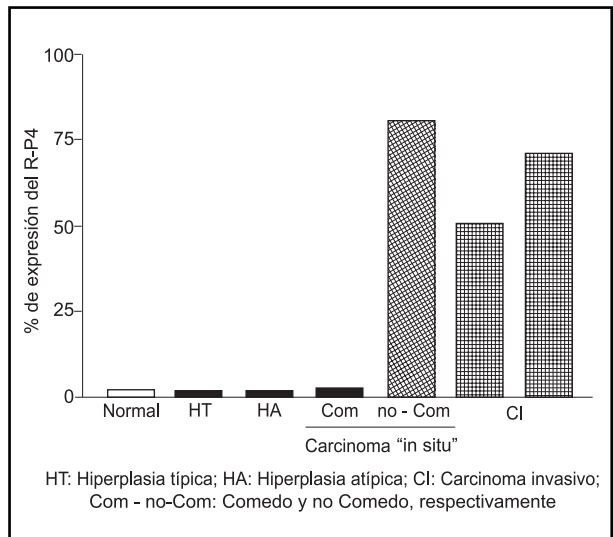


Figura 4: Porcentaje de la expresión del Receptor de Progesterona (R-P4) en epitelio mamario normal, en hiperplasia típica y atípica y en carcinoma "in situ" de tejido sin carcinoma invasivo. Cada barra representa un estudio individual. En el texto se identifican las citas bibliográficas correspondientes. Sólo se seleccionaron estudios por inmunohistoquímica. A los efectos de comparar, se muestran los resultados comunicados de dos estudios en cáncer de mama invasivo.

por otro lado activando la proteína RAF, la cual fosforila la MAPK directamente o por la vía de la reacción en cadena de diversas proteínas (RAS, SOS, EGRB2 y SHC). La MAPK interacciona con el DNA promueve la mitogénesis, el crecimiento celular e inhibe la apoptosis.

De forma tal como en el caso del estradiol, amplifica daños genéticos oncológicos en células que están en crecimiento mediada por la acción de prolactina.

II- Grado de proliferación celular

La cinética del ciclo celular es un fenómeno complejo con implicancias significativas en el pronóstico de cáncer invasivo. Los métodos de estudio son muy variables, en general estos pueden realizarse por el índice mitótico, por microscopía de luz, por fracción en fase S, por citometría de flujo, por índice de timidina marcada o por inmunohistoquímica.

En la tabla 3 mostramos los resultados obtenidos de diversas publicaciones expresados como porcentaje del grado de proliferación celular de los distintos modelos morfológicos.

Expresamos en esta tabla los resultados en porcentaje de absoluto en tumores sin y con cáncer invasivo.

- Sin cáncer invasivo el epitelio normal puede tener un grado de proliferación celular de 0,22% a 0,98% ²¹⁻²².

- Con respecto a la hiperplasia típica el grado de proliferación celular ha sido descrito en alrededor del 3,5% ² y en la atípica del 6.7% ⁸.

- En el carcinoma “in situ” en la variante comedo en un estudio se obtiene el 5,2%, en porcentaje grado de proliferación celular ⁸ mientras que en otro, el 12,3% ²³.

- Mientras que en el carcinoma “in situ” en la variante no comedo un estudio muestra el 1,8% ²⁴ otro el 6,5% ²⁵.

- Con respecto a los tumores que evolucionaron a cáncer invasivo en las hiperplasias típicas el porcentaje de grado de proliferación celular es de 14,6% ⁵, el carcinoma “in situ” en la variante comedo 5,9 ó 51,3% según dos diferentes comunicaciones ^{7,2}.

Como puede observarse los resultados obtenidos en el grado de proliferación celular, ya sean hiperplasia típica o carcinoma “in situ” en la expresión comedo, son significativamente mayores en aquellos con cáncer invasivo respecto a los tumores que no tuvieron cáncer invasivo.

Los resultados de estos pocos estudios sugieren que el grado de proliferación celular de las hiperplasia y carcinomas “in situ” que tienen cáncer invasivo son mayores a los que morfológicamente similares no evolucionaron a cáncer invasivos. Por esta circunstancia el grado de proliferación celular puede constituirse en un factor de riesgo significativo cuando se obtienen estos porcentajes aumentados en pacientes con hiperplasia típica o con carcinomas “in situ”.

III- Contenido de DNA

El contenido de DNA ha sido asociado con cáncer invasivo. El epitelio celular normal contiene DNA diploide. La mayoría de los cánceres invasivos, 60-70% de los mismos contiene DNA aneuploide ²⁶. El contenido de DNA en los distintos modelos morfológicos mostraron que:

1. No hay estudios en hiperplasias típicas
2. El 30% de las hiperplasias atípicas tienen DNA de tipo aneuploide
3. 60-85% carcinomas “in situ” ^{2,27} de la variante comedo versus al 30-50% de la no comedo ^{13,28} tienen DNA aneuploide.

No hay estudios del contenido de DNA en lesiones premalignas o preinvasivas conteniendo cáncer invasivo.

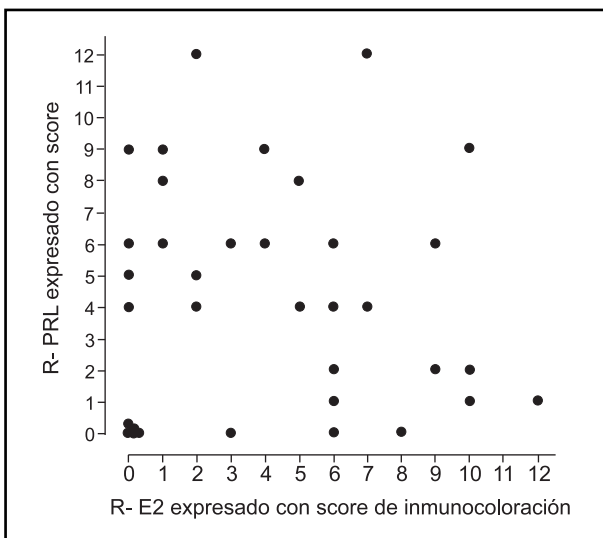


Figura 5: Relación entre la expresión del Receptor de Prolactina (R-PRL) y el Receptor de Estradiol (R-E2) determinados por score de inmunocoloración en tejido de cáncer mamario.

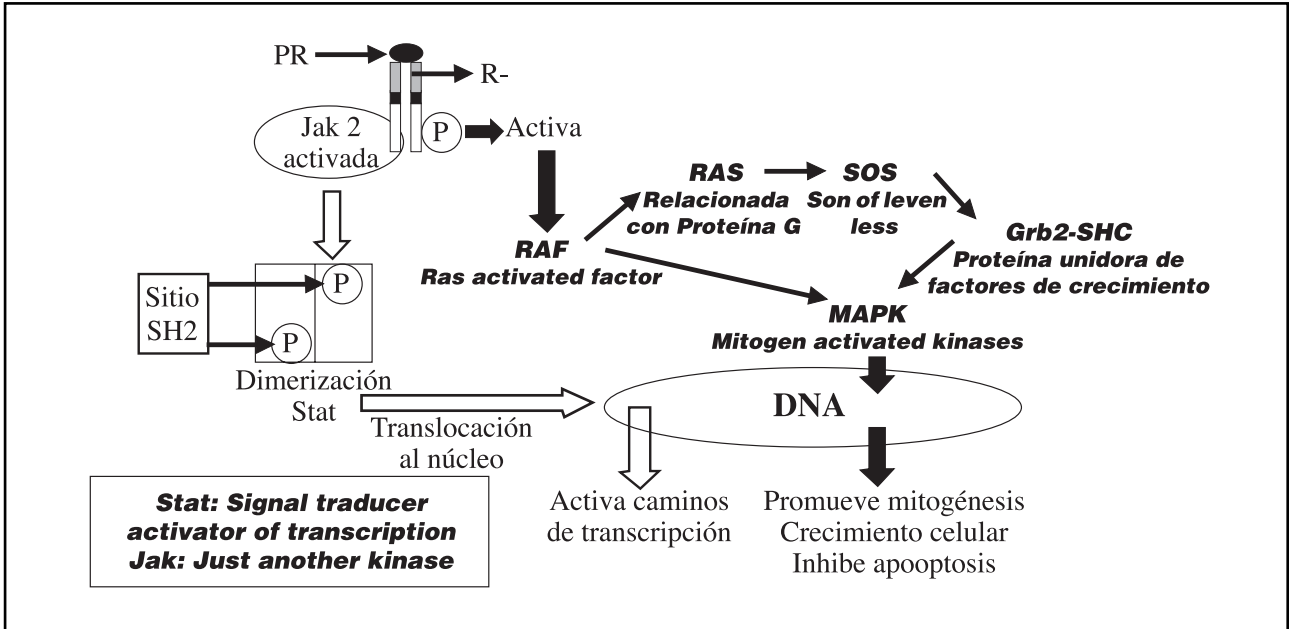


Figura 6: Mecanismo de acción de la Prolactina por señales intracelulares producidas por activación del Jak 2 o de la cascada del RAF.

La aneuploidía y el grado de diferenciación celular están vinculados a menor supervivencia y menor tiempo libre de la enfermedad.

IV- Oncogenes

1. C/erbB-2/HER/2. El gen está en el cromosoma 17q21 codifica una glicoproteína de 185 kDa con actividad de tirosina quinasa. Es un miembro de la familia de receptores de factores de crecimiento tipo I, y no se conoce el ligando de este oncogen.
2. C-erbB-1/ receptor de EGF. El gen está en el

cromosoma 7q21 codifica una glicoproteína de 170 kDa con actividad de tirosina quinasa. Es un miembro de receptores de factores de crecimiento tipo I. Los ligandos entre otros son: el EGF y el TGF α . Son una familia de oncogenes de similar peso molecular de alrededor de 21 kDa están involucradas en la transducción de moléculas activadas como los receptores de factores de crecimiento. Mutaciones de este gen son frecuentes en algún tipo de cánceres.

3. myc. Familia de oncogenes que codifica para fosfoproteínas unidoras al DNA. No se conoce mecanismo para la regulación del crecimiento celular.

En la tabla 4 mostramos los resultados de estos oncogenes en los distintos tipos de mamas en epitelio normal hasta carcinoma invasivo. Los resultados se expresan como porcentaje de positivos y para cada uno resulta el promedio de lo reportado por diferentes autores.

- Como puede observarse el C/ erbB-2 el mismo no se expresa en el epitelio normal ²⁹.
- Con respecto a la hiperplasia típica o atípica sin carcinoma invasivo no se expresa este oncogen ^{4,23}.
- En cuanto al carcinoma "in situ" variante comedo del 62-100% ^{30,12}.
- En el no comedo del 0-24% ^{5,31}

Tabla III. Grado de Proliferación Celular GPC en distintos modelos morfológicos en mamas con o sin Cáncer Invasivo

Resultados en % de absoluto GPC en los distintos modelos morfológicos (rango de los distintos trabajos publicados, seleccionados por IM)					
	Epitelio normal	Hiperplasia		Carcinoma "in situ"	
		Típica	Atípica	Comedo	no Comedo
Sin Cáncer Invasivo	0.22-0.98	3.5	6.7	5.2-12.3	1.8-6.5
Con Cáncer Invasivo	---	14.6	---	5.9-51.3	---

Este oncogen no se expresa en mamas con hiperplasia típica ² ni con hiperplasia atípica ² que evolucionaron a cáncer invasivo

En el carcinoma "in situ" comedo entre el 61-75% ^{26,32} y del 7-12% en el no comedo ^{1,33} con evolución a cáncer invasivo.

EL oncogen C/erbB-1 REGF

- no se expresa en el epitelio normal ⁴ y en las mamas sin carcinoma invasivo

- en aquellas con carcinoma "in situ" en la variante comedo sin carcinoma invasivo, se expresa en un 25% ³⁴.

- en carcinoma invasivo la expresión de este oncogen es del 40-50% ³⁴.

Con respecto al oncogen ras

- en el epitelio normal los resultados son muy variables encontrándose referencia que dan del 0-100% ^{24,34}.

- En aquellas mamas sin carcinoma invasivo con hiperplasia típicas el ras se expresa entre 4,5-100,5 ^{22,12}

- Con hiperplasia típica en el 100% de los casos estudiados ²

- No hay reportes en la literatura de este oncogen en mamas que tuvieron una evolución a carcinoma invasivo.

El oncogen myc

- Se expresa en un 0-62% ^{35,2} respectivamente en el epitelio normal

- Mientras que en hiperplasias típicas que no evolucionaron a carcinoma invasivo la expresión de este oncogen es del 18% ²²

Con respecto a la expresión de estos oncogenes

en carcinoma invasivo

- C/erbB-2 se expresa en un 20-30% ³⁶

- En el C/erb B-1 REGF 40-50% ³⁶

- EL ras en el 30-80% de los caos ³⁷

- EL myc en el 1-56% de los casos ³⁸

La expresión de estos oncogenes están asociadas con mal pronóstico no se reportaron hasta el presente fehacientemente, diferencias en la expresión de los mismos entre cáncer invasivo y no invasivo

V- Factores de crecimiento

TGF- α y su receptor.

- Se sobreexpresan hasta un 50% en cáncer invasivo ³⁶

Está asociado con características biológicas agresivas del tumor y pobre supervivencia.

- Su expresión es baja en mamas normales.

- En mamas hiperplásicas con o sin cáncer invasivo se expresan entre el 87-100% de los casos.

TGF- α . Pertenece a una familia de proteínas inhibitorias. Su receptor es desconocido. Se expresa en mamas normales y sugestivamente en cáncer invasivo sugiriendo que este fenómeno es debido a la pérdida de su capacidad inhibitoria. ³⁹

IGF-1. Miembro de la familia de las insulinas. Es mediador fisiológico del crecimiento celular normal. En muchos tipos de cáncer se expresan los receptores IGF-1 ³⁹.

De todos estos factores se sabe que si están presentes en cáncer invasivo son de mal pronóstico. Se conoce muy poco el significado de su expresión en lesiones premalignas de la mama.

Tabla IV. Oncogenes y Factores de Crecimiento en distintos modelos morfológicos en mamas con o sin Cáncer Invasivo.

	Resultados promedio (% de positivos) reportado por diferentes autores									
	Normal	Hiperplasia				Carcinoma "in situ"				Invasivo
		Típica	Atípica		Comedo	no Comedo				
	SCI	CCI	SCI	CCI	SCI	CCI	SCI	CCI		
c-erbB-2	0	0	0	0	0	62-100	61-75	0-24	7-11	20-30
c-erbB-1	0	-	-	-	-	25	-	-	-	40-50
R-EGF										
ras	0-100	4.5-100	-	100	-	-	-	-	-	30-80
myc	0-62	18	-	-	-	-	-	-	-	1-56

SCI: Sin cáncer invasivo; CCI: con cáncer invasivo

VI- Genes supresores de tumores.

p53. Está localizado en el cromosoma 17q13. Codifica una fosfoproteína de 56 kDa que funciona como un factor de transcripción y está involucrada en la regulación de la proliferación celular ⁴⁰.

La mutación del P53 es muy común en muchos tipos de cáncer, resultando una proteína inactiva que se acumula en una muy alta concentración en los tejidos. ⁴¹

- Se expresa hasta un 50% en cáncer invasivo y está ligado a otros factores agresivos y a pobre supervivencia ^{41,42}.

- No hay expresión en epitelio normal.

- En carcinoma "in situ" comedo ⁴³⁻⁴⁵ con cáncer invasivo, se expresa entre un 43 a 67% mientras que la expresión en no comedo es significativamente menor 16-33% ^{32,45-46}.

VII- Enzimas lípticas

Se secretan en células epiteliales y del estroma. Degradan elementos de la matriz extracelular. La más importante es la catepsina D que promueve la activación del activador del plasminógeno tipo ureoplasma que convierte el plasminógeno en plasmina el cual activa la collagenasa tipo IV. Esta es una metaloproteína que degrada el colágeno tipo IV de la membrana basal.

Los niveles aumentados de catepsina D han sido relacionados con mal pronóstico.

- Se expresa muy poco en la mama normal.

- Se sobreexpresa en hiperplasias típicas

No hay estudios en otros modelos morfológicos.

Se observó una sobreexpresión de collagenasa tipo IV en hiperplasias típicas y atípicas así como un carcinoma "in situ" con o sin cáncer invasivo concurrente ⁴⁷.

La simple evaluación de esta enzima no parece suficiente para detectar su participación en la evolución a carcinoma invasor.

La obesidad como factor de riesgo de cáncer mamario

Se considera que el estradiol y la testosterona juegan un papel importante en el cáncer de mama ⁴⁸⁻⁴⁹.

Ambos esteroides, particularmente la fracción biodisponible de los mismos, se encuentran aumen-

tadas en el cáncer de mama. ⁵⁰

El tejido adiposo es capaz de concentrar y metabolizar esteroides sexuales en una relación directa con la masa del mismo.

El tejido adiposo constituye un factor de riesgo de cáncer mamario por la capacidad de aumentar niveles circulantes de estradiol libre y testosterona biodisponible.

El ovario de la mujer menopáusica normal deja de sintetizar estrógenos poco después del último ciclo menstrual, en consecuencia los niveles circulantes de este esteroide disminuyen significativamente. Sin embargo no se modifican los andrógenos (testosterona y dihidrotestosterona).

Los esteroides sexuales, andrógenos y estrógenos circulan en parte unido a la SHBG pero con distinta capacidad de unión: mayor para la dihidrotestosterona que para la testo y la testo mayor que para el estradiol. A su vez la T circula unida también a la CBG.

La porción de los esteroides sexuales que no están unidas a esta proteína constituye la fracción biodisponible de las mismas.

Por otra parte la glándula adrenal produce androstenediona. En la menopausia, éste es el mayor precursor de los estrógenos, tanto a nivel circulante como en los órganos periféricos, particularmente la mama. En la mama la androstenediona es convertida por un lado por la acción de la aromatasa a estrona y estradiol ⁵¹ y por otro es capaz de transformarse a testosterona y ésta a dihidrotestosterona por la actividad enzimática de la mama de la 17 β óxido-reductasa ⁵² y 5 α reductasa.

El IGF I ha sido demostrado en varias líneas de cultivos celulares de tejido mamario y su concentración guarda una relación directa con los niveles de estradiol ⁵³.

Por otro lado existen en la mama proteínas ligadoras de los factores de crecimiento particularmente del IGF I denominados IGFBPs.

Actualmente se conocen seis IGFBP diferentes. Los IGFBPs, o proteínas unidoras de los IGF I inducen sobre este factor de crecimiento un equilibrio, en forma tal que el mismo se encuentra en forma libre o ligado a esta proteínas unidoras. La fracción libre del IGF I es la que ejerce la acción biológica a nivel tejido periférico ⁵⁴.

La IGF I, así como la testosterona, tiene sobre las

células mamarias un efecto mitogénico y antiapoptótico ⁵⁵.

Estas características del factor de crecimiento hacen que un incremento del mismo sea considerado un factor de riesgo carcinogénico.

La secreción del ovario de la mujer obesa menopáusica no difiere significativamente de la mujer normal. Así como tampoco se modifica significativamente la secreción de androstenediona del origen Adrenal.

El efecto de la obesidad sobre los niveles circulantes de los esteroides sexuales se manifiesta a través del transporte de los mismos. Ha sido claramente demostrado que el incremento del índice de masa corporal cuando es $> 28 \text{ Kg/m}^2$ aumenta los niveles circulantes de insulina y cortisol y en forma paralela al grado de obesidad se observa un marcado descenso de la SHBG y CBG. Ésto incuestionablemente favorece la liberación del estradiol y de la testo de su unión a esta proteína aumentando la fracción biodisponible ⁵⁶.

Dado el mayor coeficiente de afinidad de la dihidrotestosterona y la testosterona que la del estradiol, es lógico comprender que cuando las proteínas transportadoras SHBG y CBG disminuyen su concentración en el plasma, la disponibilidad del estradiol superará a la de los andrógenos.

En la obesidad abdominal, especialmente la adiposidad subcutánea y visceral, se ha podido demostrar una mayor liberación de los ácidos grasos libres que pasan a la circulación periférica. Estos ácidos grasos libres son capaces, por un lado de competir con el estradiol en su unión con la SHBG y por otro lado, disminuye a nivel hepático la biosíntesis de esta proteína transportadora, configurando así el mecanismo por el cual aumenta la biodisponibilidad del estradiol circulante en la obesidad ⁵⁷.

Concomitantemente, el aumento del cortisol que frecuentemente se observa en la obesidad también es capaz de desplazar la testosterona de la CBG. Como la constante afinidad de la testo por la SHBG supera al estradiol, una parte de este último será desplazado aumentando así los niveles de estradiol biodisponible.

En otras palabras en la obesidad aumentan significativamente, por los mecanismos descriptos, la fracción biodisponible biológicamente activa del estradiol.

Sintetizando, hasta aquí podemos decir que el estradiol y los andrógenos biodisponibles aumenta

significativamente por disminución de las proteínas transportadoras.

Es decir que los esteroides sexuales se encontrarán significativamente aumentados en el órgano blanco, en este caso en la mama. Además la androstenediona que proviene de la glándula suprarrenal produce mayor cantidad de estradiol dado que la aromataza aumenta significativamente cuando crece la masa del tejido adiposo. El exceso de estradiol inducirá una mayor síntesis de IGF I.

El Antígeno Prostático Específico (PSA) es una proteasa que fue descrita por primera vez en el año 1971 en el líquido seminal ⁵⁸. Diamandis y col. ⁵⁹ con una técnica bioquímica de alta sensibilidad encuentran niveles de PSA en varios tejidos de la mujer, particularmente en la mama, el endometrio y el ovario.

Por otro lado ha sido demostrado que comparativamente a los niveles circulantes de PSA en la mujer normal esta proteína aumenta significativamente en la obesidad y en el hirsutismo llegando a duplicar los valores hallados en la mujer normal ⁶⁰.

Recientemente ha sido descrito que se encuentran niveles aumentados de PSA plasmática en mujeres con cáncer de mama y simultáneamente, niveles descendidos de las IGFbps. Estos estudios ⁶¹ sugieren la posibilidad de que el PSA actuando como una activa proteasa sea el verdadero responsable de la disminución de los IGFbps por su actividad proteolítica a nivel del carcinoma mamario, permitiendo así una mayor disponibilidad del IGF1 especialmente en la mujer obesa.

Sintetizando entonces, el mayor aporte de estradiol a la glándula mamaria, inducido en la mujer obesa como consecuencia de la disminución de las proteínas transportadoras, más la mayor producción "in situ" por el aumento de la aromataza utilizando como precursor la androstenediona adrenal. El incremento del IGF I, sintetizado "in situ" por aumento del estradiol sumado a la disminución de las proteínas transportadoras de este IGF I por el incremento en la obesidad del PSA, induce una mayor concentración local de IGF I libre.

Por otro lado el mayor aporte de testosterona y dihidrotestosterona proveniente de sangre periférica por disminución de las proteínas transportadoras en la obesidad hace que el incremento "in situ" de estos andrógenos junto con el IGF1 libre aumente la

capacidad mitogénica y antiapoptótica que tienen estas sustancias constituyendo así a la obesidad, en un verdadero factor de riesgo para el cáncer mamario.

La Fig. 7 muestra un esquema de la biosíntesis, transporte y mecanismo de acción de los esteroides sexuales y del IGF I en mama en la mujer menopáusic normal y obesa respectivamente.

**Metástasis ósea del carcinoma mamario
Sialoproteína ósea (BSP) Aspectos genéticos**

La BSP es miembro de una familia de proteínas unidoras de integrinas. El gen que la codifica se encuentra en el brazo largo del cromosoma 4. Tiene seis pequeños Exones y un gran Exón 7, de 2,6 kilobases.

EL Exón 7 contiene un 3'UTR región que no se transcribe y un sitio de consenso, repetición ANU. EL Exón 1 no es codificante. Contiene una región TATAA y CCAT boxes. Un sitio AP-1 que es una enzima de restricción.

Estos sitios están involucrados en la regulación de otros genes como el de la osteopontina y osteocalcina.

Aspectos bioquímicos:

- Constituye el 10-15% de las proteínas no colágeno del compartimiento mineral.
- Presenta 4 consensos repetidos, asparagina -X-serina/treonina.
- Residuo N y O oligosacáridos y ácido siálico
- Cambios postraslacionales incluyen sulfación de tirosina y fosforilación de serina treonina.

La función de la BSP está involucrada para la mineralización del nuevo hueso y la calcificación del tejido extra esquelético. Igual que otros miembros de esta familia tiene un dominio de RGD, (arginina -glicocola-asparagina), que une las integrinas $\alpha\beta3$ y $\alpha\beta5$. Por estos receptores se adhiere a las células y genera señales a través de la matriz proteica. También ha sido demostrada la expresión de BSP en células endoteliales cuyo efecto sería adherirse a la misma y promover el desarrollo vascular.

La significación clínica de las BSP serían las siguientes:

- Presenta variaciones diurnas. Valores mayores a la mañana temprano y bajos a la tarde.
- No correlaciona con la fosfatasa alcalina ósea,

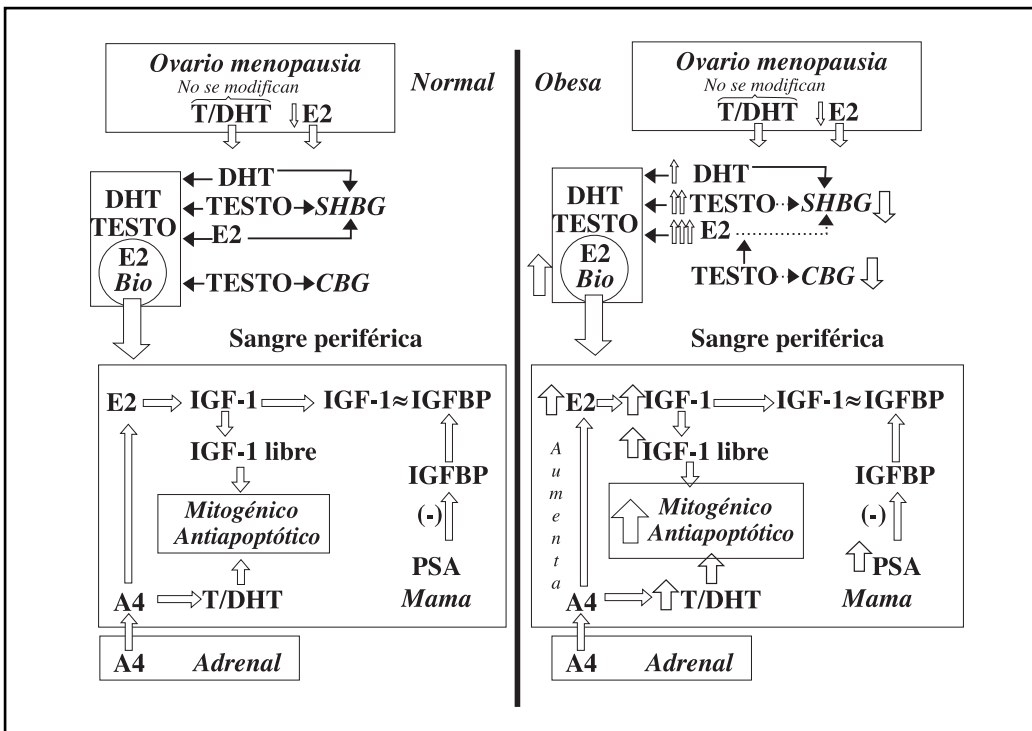


Figura 7: Secreción, transporte, conversión periférica y acción biológica del Estradiol (E2), Testosterona (T) y Dihidrotestosterona (DHT) en tejido mamario de mujer menopáusic delgada y obesa.

con la osteocalcina, con el índice de masa corporal, con la masa mineral ósea, con el calcio o con la creatinina.

- En las osteopatías correlaciona mejor con marcadores de resorción que con los de formación.

En la fig. 8 se muestra el papel de las BSP en las metástasis óseas.

La célula cancerosa osteotrópica tiene receptores para integrinas y es capaz de liberar BSP. Estas BSP juntas con las de la matriz ósea se unen al receptor de las integrinas que tiene los osteoclastos. Ésto hace que el osteoclasto se una a la matriz ósea, genere osteolisis y hace que migre la célula osteotrópica que a través de su receptor de integrinas se une a la BSP y así por la osteolisis que genera el osteoclasto se colonizan dentro de la matriz ósea.

Por este fenómeno serían las BSP, que estarían involucradas en la metástasis óseas tan frecuentes en carcinoma de mama. Para una revisión de este tema consultar cita 62.

18% de la mortalidad de las mismas.

El riesgo de contraer cáncer de mama es de 1:8 en USA, 1:12 en Europa y de 1:80 en Japón. No existen estadísticas respecto a la incidencia del cáncer de mama en las mujeres de nuestro país.

Características del cáncer de mama

El 5% del cáncer de mama presenta mutaciones del BRCA-1 y estos son considerados carcinomas hereditarios. El 95% restante, tanto de mujeres pre como posmenopáusicas, son inicialmente hormono dependientes; luego de un período, que puede ser de varios años, el tumor comienza a ser hormono independiente.

Seguidamente trataremos de describir este proceso, la hormono dependencia tumoral, y por qué algunos de ellos pasan de ser hormono dependientes a no dependientes.

Cáncer de mama hormonodependiente e independiente

El cáncer de mama en los países del oeste de Europa, Estados Unidos y Canadá representan el 25-31% del total de cáncer en las mujeres, y entre 15-

Cáncer de mama hormonodependiente

El estradiol (E2) es fundamental en el desarrollo y progresión del cáncer de mama. La interacción o interrelación del E2 con su Receptor (R-E2) en el

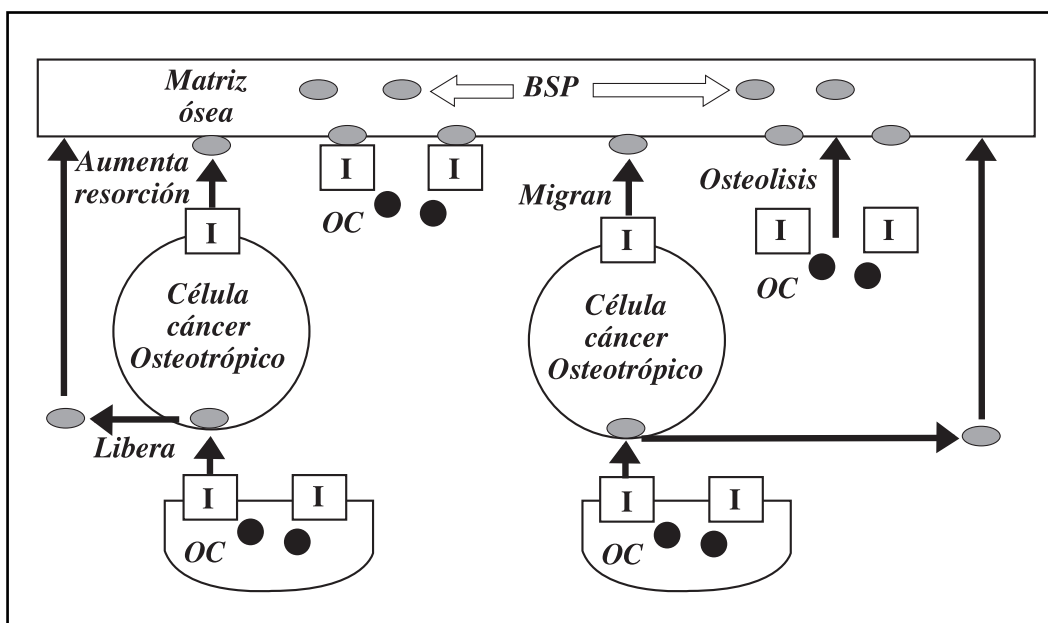


Figura 8: Mecanismo de formación de metástasis óseas de células de cáncer de mama osteotrópicas. BSP: Sialoproteína ósea; IR: Receptor de Integrina; OC: Osteoclastos.

cáncer hormono dependiente es el paso fundamental de la respuesta hormonal. La presencia de receptores para E2 funcionales decide el tratamiento con antiestrógenos en estas pacientes.

El Receptor de Estradiol (R-E2) pertenece a una superfamilia de diversos ligandos, por ejemplo el de Progesterona, Andrógenos, Glucocorticoides, Mineralocorticoides, 1-25 dihidroxi Vit D, Ácido Retinoico y otros ⁶³⁻⁶⁴.

El gen del R-E2 se encuentra en el brazo corto del cromosoma 6 en la posición q24→q27. Se manifiesta como una simple copia de 140 Kb de largo, y codifica una proteína de 65-66 kDa con alta afinidad por el E2 ⁶⁵.

En la Figura 9 se muestra la estructura hipotética simplificada del R-E2 incluyendo dominios y subdominios tales como los de dimerización (DD), localización nuclear (NSL) y activación de la transcripción (AF1 y AF2) ⁶⁶. 9

Como se muestra en la Figura, el RNAm está expresado por 8 exones. El exón 1 codifica la región N-terminal de la proteína, identificada también como zona A/B, perteneciente a la región del Receptor

encargada de los mecanismos de transactivación.

Los Exones 2 y 3 (zona C) corresponden a los “dedos de zinc”. Esta porción proteica posee 4 grupos cisteínas que presentan uniones con átomos de zinc, generando así una particular estructura espacial que le da el nombre a esta región. En esta zona, la proteína receptora junto con el esteroide, se une al DNA.

La región comprendida por los exones 4-8 (zonas D, E y F) codifica para la porción C-terminal de la proteína.

El Receptor sólo está unido a una proteína denominada HSP-90. En esta situación el Receptor es inactivo. La HSP-90 se ubica en una región cercana a los “dedos de zinc”, que corresponde al sitio de unión del E2. Cuando el E2 se une a su Receptor libera la HSP-90 y el complejo E2 unido al R-E2 inicia los mecanismos de respuesta biológica mediada por su acción genómica.

El R-E2 presenta además:

- Dos sitios de dimerización (identificados en la Figura como DD), uno ubicado en uno de los anillos de cinc; y el otro cerca de la región C-terminal. El Receptor se dimeriza a través de estos sitios una vez que interacciona con el genoma.

En la Figura puede verse el dímero formado.

- Un sitio de localización nuclear (NSL), a través del cual se une al genoma al igual que la región de los dedos de zinc.

- Dos sitios de activación de la transcripción de la respuesta hormonal: AF-1 próximo al N-terminal que no es dependiente de la hormona; y AF-2 próximo al C-terminal y dependiente de la hormona. Por estos sitios se inicia la transcripción a nivel genómico y la transactivación ⁶⁶.

El E2 induce la expresión de diversos genes, entre ellos el del Receptor de Progesterona.

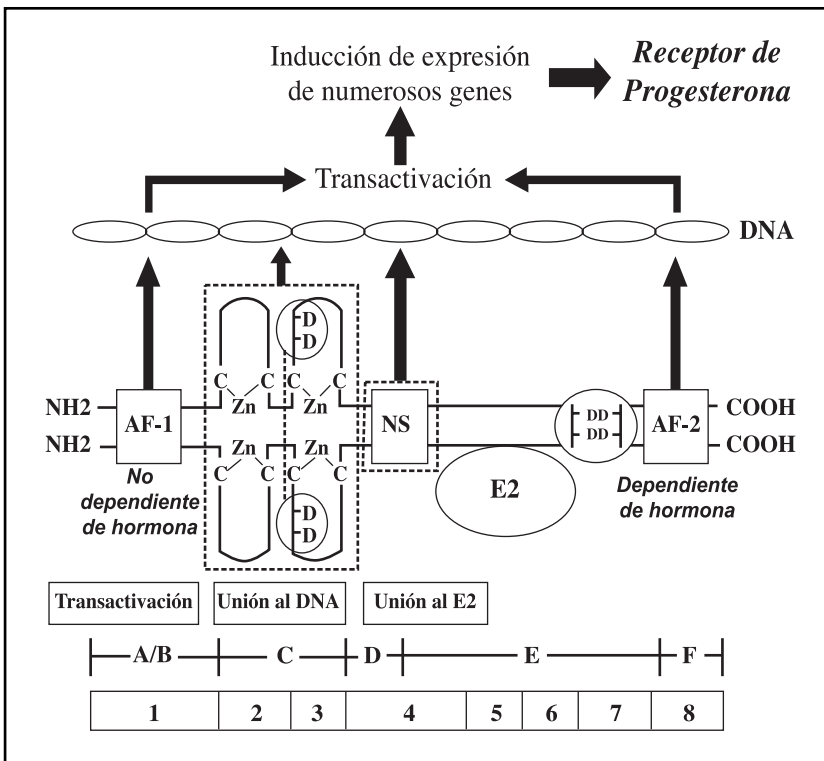


Figura 9: Estructura simplificada del Receptor de Estradiol, incluyendo dominios y subdominios tales como los de dimerización (DD), localización nuclear (NSL) y activación de la transcripción (AF1 y AF2).

El 95% de las mujeres tanto pre como posmenopáusicas son inicialmente hormono dependientes. Luego de un período, que puede ser de varios años, el tumor comienza a hacerse hormono independiente. Alteraciones en la expresión del gen del R-E2, como mutaciones o deleciones, inducen la transformación del mismo en un Receptor no funcional. En estas condiciones las células no responden a la hormona y el tumor, que era hormono dependiente, se transforma en un tumor hormono no dependiente.

Los tumores hormono dependientes son tratados exitosamente con antiestrógenos. Sin embargo, un 35-40% de ellos fracasan en la respuesta a estos fármacos. La transformación a un Receptor no funcional pudiera explicar estas fallas en la terapéutica con drogas antiestrogénicas.

Características clínicas de los tumores hormonodependientes y no hormonodependientes

El E2 mediado por su Receptor, tal como vimos anteriormente, induce la expresión del gen del Receptor de Progesterona. Los resultados en los Receptores hormonales en los tejidos tumorales pueden ser los siguientes:

a) Ambos Receptores son positivos, éstos responden a los antiestrógenos.

Si se producen alteraciones en el R-E2, podemos encontrar, las siguientes variantes:

b) R-E2 positivo y Receptor de Progesterona negativo. En este caso, el Receptor es detectado por las técnicas de valoración pero no constituye un Receptor funcional.

c) R-E2 negativo y Receptor de Progesterona positivo. Aquí el Receptor no es detectado pero es funcional.

Con respecto a los grupos b) y c), 1/3 responden a los antiestrógenos y el 2/3 restante no responde a los mismos.

d) Ambos Receptores negativos. Este grupo no responde al tratamiento con antiestrógenos.

Los tumores hormono dependientes frecuentemente presentan:

- a) Alta diferenciación.
- b) Menor porcentaje de aneuploidías.
- c) Menor índice mitótico.
- d) Mayor intervalo libre de enfermedad.
- e) Mayor sobrevivida.

f) Metástasis ósea.

Los tumores no dependientes frecuentemente presentan:

- a) Baja diferenciación.
- b) Mayor porcentaje de aneuploidías.
- c) Mayor índice mitótico.
- d) Menor intervalo libre de enfermedad.
- e) Menor sobrevivida.
- f) Metástasis en órganos viscerales.

En consecuencia los tumores hormono dependientes son de mucho mejor pronóstico que aquellos no hormono dependientes.

A continuación trataremos de explicar las razones por las cuales se producen las alteraciones del Receptor.

La Figura 10 presenta, en forma esquemática, las principales alteraciones genéticas del R-E2 que constituyen una de las causas de la transformación de tumores hormono dependientes en tumores no hormono dependientes⁶⁷⁻⁷³. Ellas son:

I) Alteraciones genéticas que inducen la expresión de un Receptor con capacidad de unión al E2 disminuida:

- Cambio de base C/T en el dominio 257 del exón 1.

II) Alteraciones genéticas que inducen la expresión de un Receptor no funcional:

- Inserción del intrón 2 o inserción del intrón 3.

- Deleción del exón 3.

- Inserción del intrón 3 conjuntamente con la deleción del exón 2.

III) Alteraciones genéticas que inducen un Receptor no detectable pero funcional:

- Deleción del exón 5.

- Deleción del exón 7.

Características de los tumores hormonodependientes y no hormonodependientes

La hormono dependencia depende de dos factores:

1) Presencia del R-E2 funcionalmente activo. La pérdida de funcionalidad, mutaciones o deleciones lo transforma en no dependiente hormonal.

2) La actividad de enzimas implicadas en la biosíntesis de E2:

a) Estrógeno sulfatasa.

b) 17 β hidroxí esteroide dehidrogenasa (17 β HSD).

Concentración de estrógenos en el tejido tumoral de la mama

La Tabla 5 muestra los resultados de Estradiol (E2), Estrona (E1), Estradiol sulfato (E2-S) y Estrona sulfato (E1-S) en mujeres pre y posmenopáusicas con tumores malignos de mama. Como puede observarse, no existen diferencias significativas en la concentración de E1 ni de E2-S. Pero hay una diferencia estadísticamente significativa en la concentración de E2 y E1-S, ambos elevados en las posmenopáusicas ⁷⁴.

La posible interpretación de estos resultados es la siguiente:

La dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAs) se transforma en la hormona dehidroepiandrosterona libre (DHEA) por acción de la Sulfatasa. Seguidamente la 3β-hidroxiesteroide dehidrogenasa (3β HSD) transforma la DHEA en androstenediona (AND). La AND se aromatiza a E1, la cual se encuentra en equilibrio con el E2 por acción de la 17β HSD. Ambos, E1 y E2, se transforman por acción de la sulfotransferasa en E1-S y E2-S respectivamente. La

E1-S se une a una proteína de unión dentro del tejido mamario; mientras que el E2-S es hidrolizado por la sulfatasa a estradiol libre. Por esta razón el E2 se encuentra significativamente aumentado.

En síntesis: el tejido tumoral mamario concentra E1 y E2, este último en mayor magnitud en las posmenopáusicas. También concentra E2-S y E1-S, pero este último sólo en las posmenopáusicas. La presencia de esta proteína unidora se ve solamente en el tejido de mujeres con esas características. Las acumulaciones mencionadas se deben a la alta actividad en la menopausia de aromatasa, sulfatasa, sulfotransferasa y de proteínas que unen estos sulfatos de estrógenos.

Principales caminos metabólicos de los estrógenos en el tejido mamario oncológico

La Figura 11 muestra los caminos del metabolismo de los estrógenos en el cáncer de mama. En la misma, las flechas más gruesas indican el sentido predominante en las reacciones que están en equilibrio.

Como puede observarse, E2 y E1 se encuentran en equilibrio por acción de la 17β HSD. Esto fundamentalmente lleva a una acumulación de E2, el que también se ve aumentado por la acción de la sulfatasa sobre el E2-S. Esta sulfatasa hidroliza el E1-S lo que hace que se produzca un “pool” de alta concentración de E1 en el tejido mamario. Tanto E1 como E2 son metabolizados por la enzima 2-hidroxilasa a 2-hidroxi estrona (2-OH-E1) y 2-hidroxi estradiol (2-OH-E2) respectivamente.

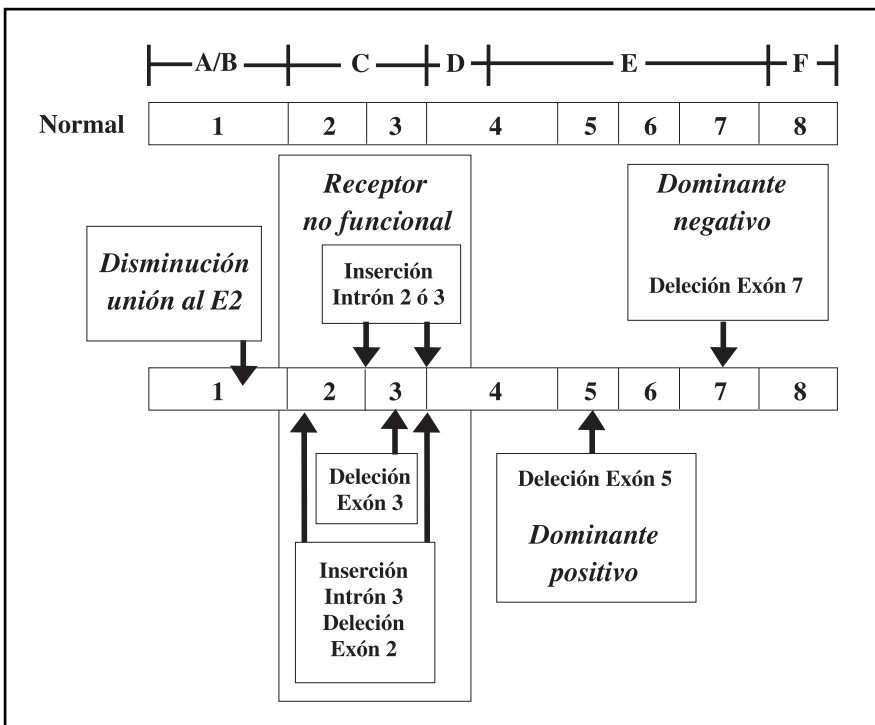
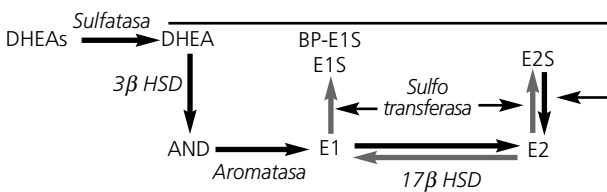


Figura 10: Representación esquemática de las principales alteraciones genéticas del Receptor de Estradiol.

Tabla V. Concentración de Estrógenos en el tejido tumoral de mama.

	Relación de concentración en el Tumor (pmol/gr) / plasma (pmol/ml)			
	E1	E2	E1S	E2S
Premenopáusicas	7	5	0.3	2
Posmenopáusicas	6	23	9.0	3



Entre ambos existen dos diferencias fundamentales:

- La concentración de 2-OH-E1 es mayor
- La 2-OH-E1 tiene mayor afinidad que el propio E2 por el R-E2, por el cual actúa selectivamente. Por estas razones la acción hormonal en el tejido mamario se produce principalmente a través de E1.
- La E1 y el E2 por acción de la 4-hidroxilasa se transforman en 4-hidroxi estrona (4-OH-E1) y 4-hidroxi estradiol (4-OH-E2), los cuales son metabolizados a 4-metoxi-E1 y 4-metoxi-E2 por la catecol-O-metil transferasa. Estos compuestos inhiben selec-

tivamente la interacción de la 2-OH-E1 mediada a través de su Receptor.

Estos caminos metabólicos ⁷⁵⁻⁷⁹ pueden resultar de mucha significación en el futuro para la elaboración de nuevos fármacos que favorezcan la acción de la metabolización de los estrógenos a los catecol estrógenos para impedir la acción de la 2-OH-E1 mediada a través de su Receptor con el cual tiene mayor afinidad que el E2 nativo.

Posibles transformaciones de células de cáncer de mama hormonodependiente en hormono no dependiente

La Figura 12 muestra los posibles factores involucrados en la transformación de cáncer hormono dependiente a no hormono dependiente. Ellos son ⁸⁰:

- Modificaciones en el R-E2: el cáncer hormono dependiente tiene un R-E2 funcional que, por variantes en el RNAm de R-E2, splicing alternativo, mutaciones o deleciones se transforma en formas mutantes del mismo que lo hacen no funcional.
- Actividad sulfatasa: el cáncer hormono dependiente funcional expresa el RNAm de sulfatasa y la proteína sulfatasa, y presenta una alta actividad que transforma E1-S en E1. La presencia de un factor llamado estimulador de la sulfatasa favorece esta conversión. El cáncer no hormono dependiente es funcional en cuanto a la expresión del RNAm para la sulfatasa y su proteína, pero es de muy baja actividad sulfatasa debido a que en la evolución del tumor se induce la expresión de un factor llamado inhibidor de la sulfatasa.
- Actividad 17β HSD: en el cáncer hormono dependiente la 17β HSD presenta alta actividad reductora en el sentido que favorece la conversión E1→E2. Sin embargo, en el cáncer no hormono depen-

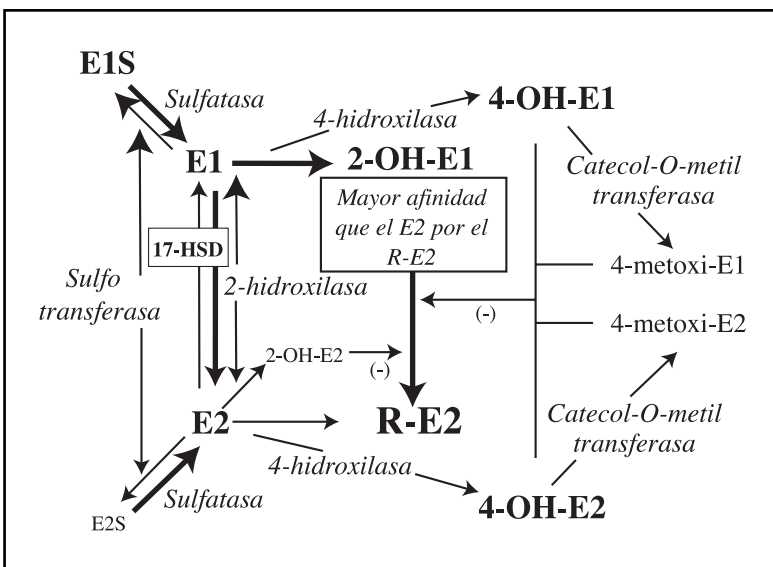


Figura 11: Caminos del metabolismo de estrógenos en el cáncer de mama. (Adaptado de JR Pasqualini y BS Katzenellenbogen. Hormone dependent cancer. Marcel Dekker, Inc. New York, Bassel, Hong Kong, 1996).

diente predomina la actividad oxidante de la enzima con lo cual se ve favorecida la transformación E2 → E1, acumulando este esteroide.

Aspectos genéticos del Cáncer de Mama

En los países desarrollados, el cáncer de mama es el tumor más frecuente y la primera causa de muerte por cáncer en las mujeres. Por su incidencia y mortalidad, representa en la actualidad uno de los principales problemas de salud pública.

Desde hace varias décadas, la incidencia de cáncer de mama se ha incrementado en todo el mundo, distribuyéndose de diferentes maneras en función de las zonas geográficas. En Argentina, el cáncer de mama representa el 11.8% de las muertes de mujeres por tumores malignos.

Se diagnostican 1.000.000 de nuevos casos por año, de los cuales sólo el 4% son "in situ" que es cuando se tiene mejor pronóstico. Aproximadamente entre el 5 al 10% de todos los cánceres de mama y de ovarios están relacionados con mutaciones en los genes BRCA1 y 2.

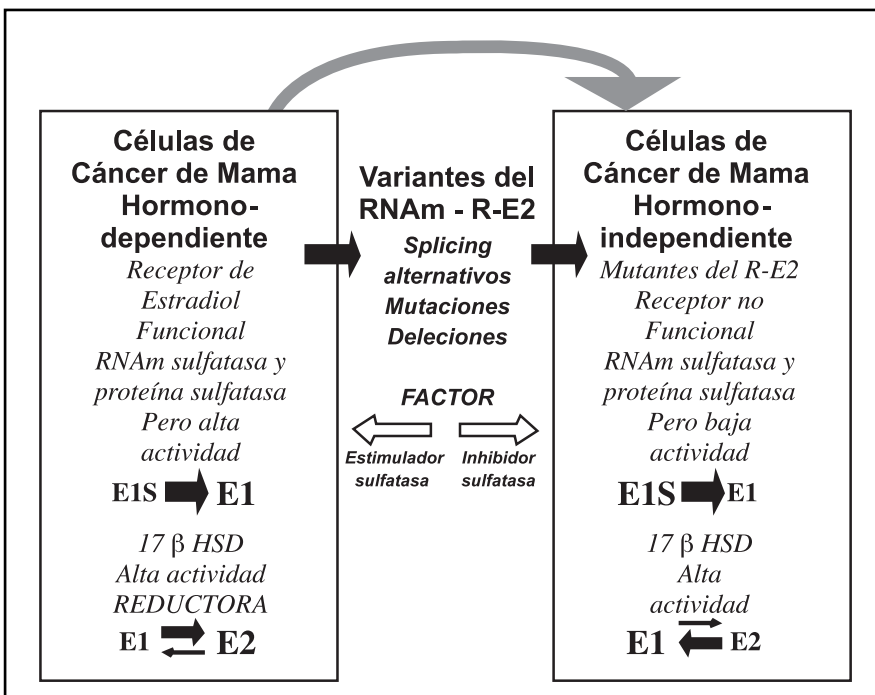
En familias de alta incidencia de cáncer de ma-

ma (más de 6 casos), se encuentran alteraciones genéticas en el BRCA1 entre el 40 a 50% de los casos, este porcentaje se eleva al 80% en los familiares que tienen cáncer de mama y de ovarios.⁸¹

Todos los tipos de cáncer se caracterizan por el cambio de las células en apariencia y en función. El de mama, se origina en células que se vuelven anormales, como consecuencia de una mutación en su ácido nucleico. La anomalía consiste en un crecimiento y una reproducción indiscriminada, lo que genera una superpoblación celular. Estas células anormales crecen descontroladamente invadiendo las células sanas, y entorpeciendo lentamente su funcionamiento.

Si las células cancerígenas se propagan hacia otras partes del cuerpo a través del torrente sanguíneo o del sistema linfático, se produce una metástasis. Si el cáncer de mama no es detectado a tiempo, puede hacer metástasis en huesos, pulmones, hígado y cerebro.

Todas las mujeres, e incluso un porcentaje pequeño de hombres, tienen riesgo de desarrollar un cáncer de mama en el transcurso de su vida. Se estima que 1 de cada 8 a 9 mujeres contraerá la enfermedad. A medida que una mujer envejece, las probabilidades de desarrollar cáncer de mama aumentan.



Cáncer de mama masculino

El cáncer de mama es una enfermedad desconocida por la gran mayoría de los hombres debido a que la mayor parte de la información sobre el tema se dedica a la población femenina, que tiene mayor riesgo de verse afectada.

Figura 12: Factores involucrados en la transformación del cáncer hormonodependiente a independiente. (Adaptado de JR Pasqualini y BS Katzenellenbogen. Hormone dependent cancer. Marcel Dekker, Inc. New York, Bassel, Hong Kong, 1996).

Es por esto que el hombre recibe un diagnóstico tardío, reduciendo las posibilidades de recibir un tratamiento exitoso.

La edad promedio en que se diagnostica está entre los 58 y los 63 años de edad, a pesar de que el hombre puede desarrollar la condición a cualquier edad. El envejecimiento, la atrofia testicular, la infertilidad, una historia de alta exposición a la radiación, un hígado enfermo y mutación en los genes BRCA, especialmente el BRCA2, son factores asociados con el alto riesgo de desarrollar esta condición.

Uno de los factores que más incide en el desarrollo de esta enfermedad es el tener una historia familiar de cáncer de mama. El cáncer de mama masculino aparece raramente. A pesar de esto, la American Cancer Society estima que este año en los Estados Unidos se diagnosticarán 1.400 nuevos casos de hombres con cáncer de mama invasivo y de estos 400, un 28.5%, morirán.

En la Argentina, la incidencia del cáncer de mama en hombres, es cercana al 1% del total de los pacientes con cáncer de mama. La mayoría de los hombres consultan porque sienten un bulto y acuden a su médico clínico.

La diferencia entre el índice de supervivencia de hombres y de mujeres sólo se puede medir por la etapa en que se encuentra la enfermedad al momento del diagnóstico.

En los hombres el diagnóstico suele producirse cuando el cáncer ha invadido el organismo, debido a que los hombres se inclinan menos a reportar cualquier tipo de síntoma.

Se pronostica que cerca de 39.000 mujeres y 400 hombres morirán este año en Estados Unidos a causa de esta enfermedad. Esto nos muestra no sólo la importancia que tiene el diagnóstico temprano y la prevención, sino la relación y distribución del cáncer de mama entre hombres y mujeres.

Factores de riesgo

- **Antecedentes familiares.** Sólo el 10% de los tumores malignos, presenta características hereditarias. Tener un familiar con cáncer de mama aumenta el riesgo, especialmente si éste se presentó antes de la menopausia o si es un familiar de primer grado (madre, padre, hermanos, hijos). Son tan importan-

tes los antecedentes por vía materna como paterna.

- **Nuliparidad** (no haber tenido hijos) o haber sido madre por primera vez después de los 35 años.

- **Menarca temprana** (comienzo de las menstruaciones antes de los 10 años) **o menopausia tardía.**

- **Dietas ricas en grasas de origen animal** (manteca, embutidos, fiambres, quesos grasos), excesos de alcohol y un exceso de peso corporal podrían incrementar el riesgo de desarrollar cáncer de mama después de la menopausia.

- **Estrógenos.** Existe un mayor riesgo en aquellas mujeres que han recibido estrógenos en la posmenopausia cuando tienen antecedentes familiares y si la toma se ha extendido por muchos años o se han empleado dosis excesivas.

Mutación en los genes BRCA

Aumenta la probabilidad de desarrollar cáncer de mama a edades más tempranas y de forma bilateral, así como el cáncer de ovarios, próstata etc.

Cáncer de mama esporádico y hereditario

A pesar de la alta incidencia del cáncer de mama, sólo son de tipo hereditario o familiar entre el 7 al 10%. Hablamos de un patrón hereditario cuando existen antecedentes familiares de cáncer de mama, ovarios o próstata y es importante destacar que además tienen una clínica y un pronóstico bien diferenciados.

En los cánceres hereditarios la edad de aparición es menor que en los esporádicos, en los hereditarios aparecen entre los 35 y los 45 años mientras que en los esporádicos no aparecen antes de los 45 años.

En los cánceres de tipo esporádico es muy poco frecuente la bilateralidad mientras que es bastante frecuente en los de tipo hereditario.

La edad de aparición del cáncer de mama hereditario en el árbol genealógico se da a edades cada vez menores a medida que se va pasando de generación en generación. Madres con mutaciones en el BRCA1 que desarrollaron cáncer de mama a los 45 años, tienen hijas que heredaron esa mutación que tuvieron el mismo cáncer pero 10 años antes aproximadamente a los 35 años.

Genes de susceptibilidad

La susceptibilidad se define como la cualidad de ser más vulnerable de lo normal a una enfermedad o trastorno, si es genética, esta vulnerabilidad se atribuye a uno o varios genes.

La progresión de muchos tumores hacia una completa malignidad, requiere además de la activación de oncogenes, la actividad de una segunda familia de genes que son los genes supresores de tumores. Estos genes, que han sido llamados también antioncogenes u oncogenes recesivos, actúan como reguladores del crecimiento en células normales y cuando se inactivan o se pierden permiten el crecimiento descontrolado encontrado en las células cancerígenas.

Hasta el momento se han identificado una docena de genes supresores de tumores. La evidencia sobre la existencia de este tipo de genes surgió inicialmente a partir de estudios sobre hibridación en células somáticas en los cuales la fusión de células tumorales con células normales producía híbridos no tumorigénicos. Estos experimentos demostraron que las células normales tenían genes capaces de suprimir el fenotipo neoplásico.

Estos híbridos eran frecuentemente inestables, el material cromosómico se perdía y el híbrido se hacía maligno, sugiriendo que la pérdida de material contenía las funciones supresoras del tumor. Además, la fusión de dos células malignas podría producir híbridos malignos.

Estos estudios aportaron el primer indicio de que las células cancerígenas pueden perder los controles de regulación del crecimiento a medida que progresan hacia la malignidad⁸². Un ejemplo típico de este fenómeno lo representa el gen supresor de tumores BRCA1.

Gen BRCA1

Fue el primer gen relacionado con el cáncer de mama, se localizó en el año 1990 en el brazo largo del cromosoma 17 (17q12) mediante análisis de ligamiento genético en familias con múltiples casos de cáncer de mama de presentación temprana.⁸³

Posterioros estudios realizados por el Breast Cancer Linkage Consortium (BCLC)⁸⁴ indicaron que las mutaciones en BRCA1 eran responsables de la pre-

disposición al cáncer en un 45% de las familias ligadas al cáncer de mama, y a un 80% de las familias con cáncer de mama y ovario.

Es un gen supresor de tumores que tiene un patrón de herencia autonómico dominante. Su RNAm es de 7.8 kb que se traducen a una proteína de 1863 aminoácidos. El gen entero tiene 5592 nucleótidos que están distribuidos en 100 kb de DNA genómico. Está compuesto por 24 exones de los cuales 22 son codificantes. El exón 11 tiene 3500 bp, constituyendo el 60% de la región codificante del gen. La fig. 13 muestra un esquema del gen

Tiene un dominio en dedo de zinc en la región aminoterminal, indicando que se trata de una proteína con unión específica al ADN. Este dominio en dedo de zinc es compartido por el BARD1 y es el sitio mediante el cual se unen para formar el heterodímero (ver Fig. 14).

Una vez que el heterodímero está formado, pueden reconocer secuencias específicas de DNA.

En la región C terminal, el BRCA1 tiene un dominio BRCT (BRCA1 C Terminal), que le permite interactuar con el P53 para activar la transcripción de una gran variedad de genes.

Las proteínas BRCA1 y BARD1 se expresan de forma coordinada en distintos tipos celulares.⁸⁵

La formación del heterodímero les otorga una estabilidad que individualmente no poseen. Ésto ha llevado a postular que los niveles relativos de ambas proteínas tengan relación con la viabilidad de la célula. Se ha demostrado que una sobreexpresión del BARD1 produce apoptosis tanto en células de ratón como en cultivos celulares humanos de cáncer de mama.^{86,87}

El BARD1 inhibe específicamente la apoptosis dependiente del BRCA1 por dos mecanismos, que dependen de la formación del heterodímero. Por otra parte, la sobreexpresión del BRCA1 puede proteger a algunas células contra el daño del DNA y eliminar la respuesta apoptótica.⁸⁸

Gen BRCA2

Este fue el segundo gen en ser relacionado con el cáncer de mama hereditario. Como discutiremos más adelante, tiene una acción conjunta con el BRCA1.

Se encuentra en el cromosoma 13 (13q12-13), y

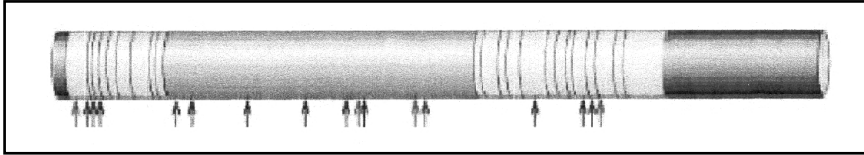


Figura 13: Esquema del gen BRCA1 y sus mutaciones más frecuentes.

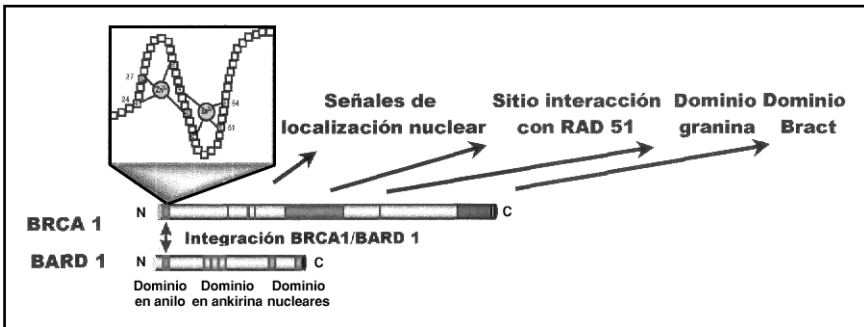


Figura 14: Descripción del dedo de Zn y su sitio de unión al BARD1 para dar el heterodímero.

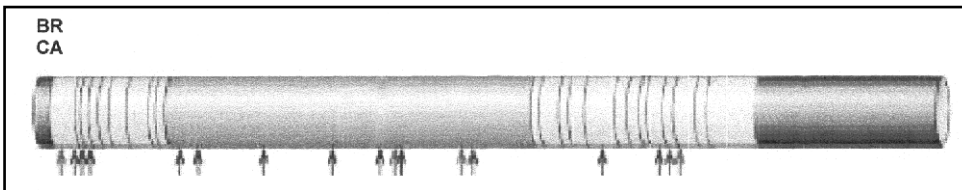


Figura 15: Esquema del gen BRCA2 y sus mutaciones más frecuentes.

da una proteína de 3418 aminoácidos. Este gen tiene 14.5 kb de longitud y está dentro de un fragmento de 70kb de DNA genómico. Ver fig. 15.

Está compuesto por 27 exones que dan una proteína de 3418 aminoácidos y al igual que el BRCA1, tiene un exón 11 de gran tamaño (4.8 kb).⁸⁹

La proteína BRCA2 interactúa con la RAD51 a través de la región BRC terminal; esto demuestra que tiene una función en la recombinación y en la reparación de rompimientos de la doble cadena del DNA igual que el RAD51.

BRCA1 y BRCA2 tienen una función celular conjunta o coordinada a pesar de las diferencias en sus secuencias, forman un tetrámero junto con el RAD51 y el BARD1, produciendo la reparación del DNA y permitiendo que se desarrolle el ciclo celular normal.

Si por alguna mutación se inactivan la proteína BRCA1 o la BRCA2, este tetrámero pierde su función y pueden ocurrir dos cosas, que falle la reparación de genes pero que se incremente la actividad del P53, se induzca la acción del P21, se produzca la detención del ciclo celular y se llegue a la apoptosis o

que falle la reparación del P53 u otros genes y que se produzca la proliferación celular.⁹⁰

Otros genes relacionados

Como se comentó anteriormente existen otros dos genes que están relacionados con el BRCA1 y BRCA2 que son los genes BARD1 y RAD 51. Estos dos genes son de vital importancia en la acción conjunta de los genes BRCA ya que son los que se les van a unir para formar el tetrámero que es el que tiene la actividad antioncogénica.

BARD1

Se llama así por BRCA1 associated RING domain 1. La fig. 16 muestra un esquema del gen. Se encuentra en el cromosoma 2 (2q34), está compuesto por 11 exones, tiene un RNAm de 2530bp que da una proteína de 777 aa. Su DNA genómico tiene 81.09 Kb.

BRCA1 y BARD1 tienen en su extremo 5' una se-

cuencia de 126 bp que codifica para una región génica de un dominio “dedo de zinc” lo que indica que la proteína BRCA1 funciona como un factor de transcripción al unirse al BARD1.⁹¹

RAD51

Se encuentra en el brazo largo del cromosoma 15 (15q15.1), tiene un DNA de 36.99Kb. Presenta 2 isoformas: una está compuesta por 11 exones, con un RNAm de 2255bp que da una proteína de 339 aa y la otra tiene 8 exones y da una proteína más chica de 242 aa y un RNAm de 1963bp.

La proteína RAD51 está involucrada en los procesos de recombinación meiótica y en el de reparación de rompimientos cromosómicos.

Resumiendo, el BRCA1 es una fosfoproteína nuclear que tiene funciones de gen supresor de tumores en células humanas de cáncer de mama. Ejerce su acción en conjunto con otras tres proteínas que son la BRCA2, RAD51 y la BARD1.

El gen BRCA1 en el núcleo se transcribe en RNAm que en el citoplasma formará la proteína, ésta se une a las importinas alfa y beta para poder ingresar al núcleo que es donde cumple sus funciones.

Una vez que se encuentra dentro del núcleo, se separa de las importinas y toma dos caminos, por un lado se une al BARD1 formando el heterodímero y actuando en conjunto como factor de transcripción.

Por otro lado se une al RAD51 y actúan en conjunto como reparadores de los rompimientos cromosómicos luego de las recombinaciones meióticas.

BRCA1 y BRCA2 tienen una acción conjunta formado un heterotetrámero junto con RAD51 y BARD1, permitiendo así que el ciclo celular se pueda desarrollar normalmente y también actúan activando el P53 y regulando la apoptosis celular.

Mutaciones

La detección de mutaciones es un proceso costoso y laborioso que consume bastante tiempo. Antes de realizar el análisis hay que permitir que los pacientes tomen una decisión informada valorando los beneficios y riesgos del test, iniciando por tanto el complejo proceso del consejo genético. En aquellos pa-

cientes portadores de mutaciones en alguno de los genes se recomienda sobre todo un seguimiento intensivo para detectar precozmente la aparición del cáncer.

Las mutaciones en el BRCA1 son responsables del 45% de los cánceres de mama hereditarios y de más del 80% de los cánceres de ovarios.

Ser portador de una mutación en el BRCA1 aumenta significativamente la probabilidad de desarrollar cáncer de mama y especialmente de ovarios en comparación con los que no son portadores de mutaciones.

De este modo, a los 40 años una mujer portadora de una mutación en el BRCA1 tiene el 20% más de probabilidad de desarrollar cáncer de mama que una mujer sin mutaciones. Ésto se va incrementando a lo largo de la vida hasta que se transforma en un 60%.

Con el cáncer de ovarios es más significativo aún debido a que la probabilidad de desarrollar este cáncer es muy baja (cerca del 2%) en toda la vida y teniendo un BRCA1 mutado ésta se eleva hasta un 18% aproximadamente.

La mayoría de los cánceres de mama heredados pueden ser atribuidos a mutaciones en la línea germinal de los genes BRCA1 y BRCA2. El resto de los casos son atribuidos a sobreexpresión de oncogenes y otras aberraciones genéticas.

Las mutaciones en el gen BRCA1 tienen mayor prevalencia en aquellas familias en las que hay presencia tanto de cáncer de mama como de ovario. Los cánceres de mama asociados al gen BRCA1 son a menudo de mayor agresividad, sobreexpresan con frecuencia la proteína supresora de tumores p53 y son receptores de estrógenos negativos.

El gen BRCA2 se ha asociado con menos casos incidentes de cáncer de ovario y muchos casos de cáncer de mama en varones. También se han encontrado grupos étnicos con una mayor prevalencia de alteraciones en estos genes.

Los genes BRCA1 y BRCA2 están mutados en una proporción de 6 personas de cada mil e indican un riesgo de desarrollar cáncer de mama mayor del 80% a lo largo de la vida, con un riesgo cercano al 40% antes de los 50 años. Se ha estimado que una de cada 150 mujeres porta una predisposición al cáncer de mama hereditario.

De las familias que tienen cáncer de mama hereditario, el 52% es debido al gen BRCA1, en el 32% al BRCA2 y el 16% es debido a otros genes. La mayoría de los cánceres de mama y ovario familiares se atribu-

yen al gen BRCA1 (81%) y el resto (14%) al BRCA2.⁹²

También, se ha indicado un mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama bilateral en las mujeres con mutaciones en alguno de estos dos genes.⁹³

Aproximadamente 3 de cada 500 mujeres porta una mutación en el gen BRCA1. A los 70 años, estas mujeres tienen un riesgo del 56 al 87% de desarrollar cáncer de mama y del 16-44% de posibilidades de desarrollar cáncer de ovario.⁹⁴

Una mutación en la secuencia codificante del gen BRCA1 da como resultado una proteína inactiva que conduce a una desregulación de la proliferación celular. Las mutaciones en este gen se dan en toda su longitud.

Diversas poblaciones tienen un espectro mutacional más o menos característico, por ejemplo suecos, holandeses o judíos asquenazíes.⁹⁵

El gen BRCA2 está asociado con cáncer de mama y de ovario, además de cáncer de mama en varones.

La edad media de diagnóstico de cáncer de mama en mujeres de familias portadoras de mutaciones en el gen BRCA1 o en el BRCA2 es de 40 años.⁹⁶

¿A quiénes estudiamos?

Es sumamente importante decidir ¿qué pacientes se van a evaluar? debido al stress que esto implica. Hay que tener muy en claro que se encuentran mutaciones en los casos hereditarios de cáncer de mama y que estos representan cerca del 10% del total de estos cánceres.

Existen características distintivas entre los esporádicos y los hereditarios, el cáncer de mama hereditario es clínicamente diferente de los cánceres esporádicos. En los cánceres hereditarios la edad de comienzo es significativamente menor, la prevalencia de desarrollo bilateral es mayor y hay una gran presencia de tumores asociados en los individuos afectados.

En cambio, los cánceres esporádicos aparecen a

edades más avanzadas y como tumor individual, no bilateral.

La histología, morfología, modelo metastásico y supervivencia son similares independientemente de si se trata de esporádico o hereditario.

Está indicado realizar el estudio de mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 si los pacientes tienen alguna de las siguientes características:

1- Si hay tres o más parientes en primer o segundo grado afectados en la misma rama de la familia, independientemente de la edad al diagnóstico.

2- Si hay menos de tres parientes afectados, pero se cumple alguna de las siguientes condiciones:

a) El paciente con cáncer de mama antes de los 45 años.

b) Un miembro de la familia con una mutación en estos genes.

c) Uno o más cánceres de ovario a cualquier edad.

d) Cáncer de mama en un varón de primer o segundo grado.

e) El paciente pertenece a un grupo de riesgo específico (étnico).

f) Cánceres múltiples o bilaterales en un individuo.

Consejo genético.

Es el proceso por el cual a los individuos y sus familiares se les da información sobre la naturaleza, riesgos y beneficios del estudio genético y su significado, además de apoyo sobre las consecuencias de dichos resultados.

Los resultados de los estudios moleculares de los genes BRCA1 y BRCA2 son probabilísticos y no indican que los portadores de una alteración tengan obligatoriamente que desarrollar la enfermedad. Es por ello muy importante proporcionar una adecuada educación antes y después de realizar el estudio, así como un correcto seguimiento en el tiempo.

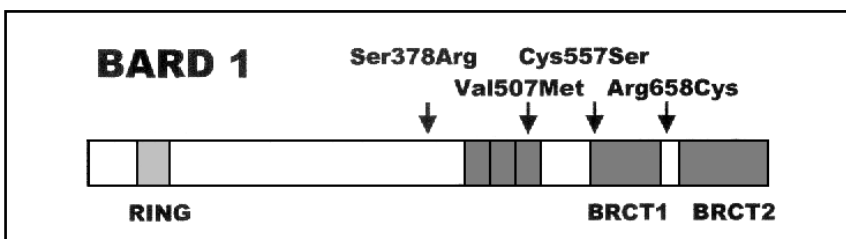


Figura 16: Esquema del gen BARD y sus mutaciones más frecuentes.

Al decidir la realización del análisis genético, los pacientes pueden saber si el riesgo estimado, basado en su historia familiar, puede aumentar o disminuir como resultado del test. También debe quedar claro que el paciente podría no recibir ninguna información útil de los resultados del test.⁹⁷

Conclusiones

La mayoría de los cánceres de mama hereditarios se deben a mutaciones en la línea germinal de los genes BRCA1 y BRCA2. El resto de los casos familiares se atribuyen a la sobreexpresión de oncogenes u otras aberraciones genéticas.

Las mutaciones en el gen BRCA1 se encuentran

en familias en las que hay antecedentes de cánceres de mama y ovario. Las mutaciones en el gen BRCA2 se han encontrado en casos de cánceres de mama masculinos.

No se tiene que solicitar un estudio genético de ninguno de estos dos genes si antes no se ha explicado al paciente todos los riesgos y limitaciones de los resultados del análisis.

El médico debe haber realizado el pedigree de la paciente y haber identificado si reúne las características necesarias que indiquen una posible mutación en el gen BRCA1 o BRCA2.

El médico solicitante debe comunicar personalmente al paciente los resultados del test y explicarle las alternativas existentes en función de los resultados obtenidos.

Bibliografía

1. Frykbert, E.R.; Pthak, D.R.; Massod, S. y col. Ductal carcinoma in situ of the breast. *Surg Gynecol Obstet* 1993; 177:425-440.
2. Alpers, C.E.; Wellings, S.F. The prevalence of carcinoma in situ in normal and cancer-associated breast. *Hum Pathol* 1985;16:796-807
3. Kintanar, E.B.; Raju, U. Further delineation of patterns of atypical ductal hyperplasia (ADH): an analysis of ADH patterns associated with intraductal and invasive breast carcinoma. *Mod Pathol* 1991;4:12A
4. McDivitt, R.W.; Stevens, J.A.; Lee, N.C. y col. Histologic Types of benign breast disease and the risk for breast cancer. *Cancer* 1992;69:1408-1414.
5. Bodian, C.A.; Perzin, K.H.; Lattes, R. y col. Abernathy TG. Prognostic significance of benign proliferative breast disease. *Cancer* 1993;71:3896-907
6. Van de Vijver, M.J.; Peterse, J.L.; Mooi, W.J. y col. Neu-P overexpression in breast cancer. Association with comedo-type ductal carcinoma in situ and limited prognostic value in stage II breast cancer. *N Engl J Med* 1988; 319:1239-1245.
7. De Potter, C.R.; Praet, M.M.; Slavin, R.E. y col. Feulgen DNA content and mitotic activity in proliferative breast disease: a comparison with ductal carcinoma in situ. *Histopathology* 1987; 11:1307-1319.
8. Dupont, W.D.; Parl, F.F.; Hartmann, W.H. y col. Breast cancer risk associated with proliferative breast disease and atypical hyperplasia. *Cancer* 1993;71:1258-65.
9. Ricketts, D.; Turnbull, L.; Ryall, G. y col. Estrogen and progesterone receptors in the normal female breast. *Cancer Res* 1991;51:1817-1822.
10. Osborne, C.K. Receptors. In: Harris JR, Hellman S, Henderson IC, Kinne DW, ed. *Breast Diseases*. Philadelphia: Lippincott, 1991:301-325.
11. De Potter, C.R.; Van Daele, S.; Van de Vijver, M.J. y col. The expression of the neu oncogene product in breast lesions and in normal fetal and adult human tissues. *Histopathology*. 1989; 15:351-362.
12. Bartow, S.A.; Pathak, D.R.; Black, W.C. y col. Prevalence of benign, atypical, and malignant breast lesions in populations at different risk for breast cancer: a forensic autopsy study. *Cancer* 1987;60:2751-2760.
13. London, S.J.; Connolly, J.L.; Schnitt, S.J. y col. A prospective study of benign breast disease and the risk of breast cancer. *JAMA* 1992;267:941-944.

14. **Chaudhuri, B.; Crist, K.A.; Mucci, S. y col.** Distribution of estrogen receptor in ductal carcinoma in situ of the breast. *Surgery* 1993;113:134-137.
15. **Poller, D.N.; Snead, D.R.J.; Roberts, E.C. y col.** Oestrogen receptor expression in ductal carcinoma in situ of the breast: relationship to flow cytometric analysis of DNA and expression of the c-erbB-2 oncoprotein. *Br J Cancer* 1993;51:1297-1302.
16. **Ohuchi, N.; Thor, A.; Page, D.L. y col.** Expression of the 21,000 molecular weight ras protein in a spectrum of benign and malignant human mammary tissues. *Cancer Res* 1986;46:2511-2519.
17. **Henderson, B.E.; Ross, R.; Bernstein, L.** Estrogens as a cause of human cancer: the Richards and Hindau Rosenthal Foundation Award Lecture. *Cancer Res* 1988;48:246-253.
18. **Locker, A.P.; Horrocks, C.; Gilmour, A.S. y col.** Flow cytometric and histological analysis of ductal carcinoma in situ of the breast. *Br J Surg* 1990;77:564-567.
19. **Pike, M.C.; Spicer, D.V.; Dahmouh, L.** Estrogens, progesterone, normal breast cell proliferation and breast cancer risk. *Epidemiol Rev* 1993; 15: 17-35.
20. **Glasow, A.; Horn, L.C.; Taymons, S.E. y col.** Mutational analysis of the PRL receptor gene in Human Breast Tumors with differential PRL receptor Protein expression. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86; 3826-3872.
21. **Linden, M.D.; Torres, F.X.; Kubus, J. y col.** Clinical application of morphologic and immunohistochemical assessments of cell proliferation. *Am J Clin Pathol* 1992; 97S: 4-13.
22. **Barnes, R.; Masood, S.** Potential value of hormone receptor assay in carcinoma in situ of breast. *Am J Clin Pathol* 1990;94:533-537.
23. **Pike, M.C.; Spicer, D.V.; Dahmouh, L. y col.** Estrogens, progesterone, normal breast cell proliferation, and breast cancer risk. *Epidemiol Rev* 1993;15:17-35.
24. **Giri, D.D.; Dundas, S.A.C.; Nottingham, J.F. y col.** Oestrogen receptors in benign epithelial lesions and intraduct carcinomas of the breast: an immunohistochemical study. *Histopathology* 1989;15:575-584.
25. **Ferguson, D.J.P.; Anderson, T.J.** Morphological evaluation of cell turnover in relation to the menstrual cycle in the "resting" human breast. *Br J Cancer* 1981;44:177-181.
26. **Silva, J.S.; Georgiade, G.S.; Dilley, W.G. y col.** Menstrual-cycle dependent variations of breast cyst fluid proteins and sex steroid receptors in the normal human breast. *Cancer* 1983;51:1297-1302.
27. **Allred, D.C.; Clark, G.M.; Tandon, A.K. y col.** HER-2/neu in node-negative breast cancer: prognostic significance of overexpression influenced by the presence of in situ carcinoma. *J Clin Oncol* 1992;10:599-605.
28. **Gusterson, B.A.; Machin, L.G.; Gullick, W.J. y col.** Immunohistochemical distribution of c-erbB-2 in infiltrating and in situ breast cancer. *Int J Cancer* 1988;42:842-845.
29. **Perry, R.R.; Mazetta, J.; Levin, M. y col.** Glutathione levels and variability in breast tumors and normal tissue. *Cancer* 1993;72:783-787.
30. **McCarty, K.S.; Miller, L.S.; Cox, E. y col.** Estrogen receptor analysis. Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antibody receptor antibodies. *Arch Pathol Lab Med* 1985;109:716-721.
31. **Berns, E.M.J.J.; Foekens, J.A.; Putten, W.L.J. y col.** Prognostic factors in human primary breast cancer: comparison of c-myc and HER2/neu amplification. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992;43:13-19.
32. **Tsuda, H.; Iwaya, K.; Fukutomi, T. y col.** P53 mutations and c-erbB-2 amplification in intraductal and invasive breast carcinomas of high histologic grade. *Jpn J Cancer res* 1993;84:394-401.
33. **Berardo, M.D.; O'Connell, P.; Craig Allred, D.** Biological characteristics of premalignant and preinvasive breast disease. In *Hormone-dependent cancer*. Ed. Pasqualini JR and Katzenellenbogen BS. Marcel Dekker Inc. New York-Basel-Hong Kong. Cap 1, 1999.
34. **Carter, C.L.; Corle, D.K.; Micozzi, M.S. y col.** A Prospective study of the development of breast cancer in 16,692 women with benign breast disease. *Am J Epidemiol* 1988;128:467-477.
35. **Carpenter, R.; Gibbs, N.; Matthews, J. y col.** Importance of cellular DNA content in pre-malignant breast disease and pre-invasive carcinoma of the female breast. *Br J Surg* 1987;74:905-906.

36. **Rajkulmar, T.; Gullick, J.** The type 1 growth factor receptors in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1994;58:453-457.
37. **Bos, J.L.** Ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res* 1989;49:4682-4689.
38. **Berns, E.M.J.J.; Foekens, J.A.; Van Putten, W.L.J. y col.** Prognostic factors in human primary breast cancer: comparison of c-myc and HER2/neu amplification. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992;43:13-19.
39. **Tripathy, D.; Benz, C.** Growth factors and their receptors. *Hematol Oncol Clin North Am* 1994; 8:29-50.
40. **Levine, A.J.; Momand, J.; Finlay, C.A.** The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 1991;351:453-456.
41. **Elledge, R.M.; Allred, D.C.** The p53 tumor suppressor gene in breast cancer. *Breast Cancer Res Trat* 1994;32:39-47.
42. **Allred, D.C.; Clark, G.M.; Elledge, R. y col.** Association of p53 protein expression with tumor cell proliferation and clinical outcome in node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:200-206.
43. **Walker, R.A.; Dearing, S.J.; Lane, D.P. y col.** Expression of p53 protein in infiltrating and in situ breast carcinomas. *J Pathol* 1991;165:203-211.
44. **Poller, D.N.; Roberts, E.C.; Bell, J.A. y col.** P53 protein expression in mammary ductal carcinoma in situ: relationship to immunohistochemical expression of estrogen receptor and c-erbB-2 protein. *Hum Pathol* 1993;24:463-468.
45. **O'Malley, F.P.; Vnencak-Jones, C.L.; Dupont, W.D. y col.** P53 mutations are confined to the comedo type ductal carcinoma in situ of the breast: immunohistochemical and sequencing data. *Lab Invest* 1994;71:67-72.
46. **Bhargava, V.; Thor, A.; Deng, G. y col.** The association of p53 immunopositivity with tumor proliferation and other prognostic indicators in breast cancer. *Mod Pathol* 1994;7:361-368.
47. **Monteagudo, C.; Merino, M.J.; San Juan, J. y col.** Immunohistochemical distribution of type IV collagenase in normal, benign, and malignant breast tissue. *AM J Pathol* 1990;136:585-592.
48. **Dorgan, J.F.; Longcope, C.; Stephenson, H.E. y col.** Relation of prediagnostic serum estrogen and androgen levels to breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1996; 5:533-539.
49. **Colditz, G.A.** Relationship between estrogen levels, use of hormone replacement therapy, and breast cancer. *J Nat Cancer Inst* 1998; 90: 814-823.
50. **Cauley, J.A.; Lucas, F.L.; Kuller, L.H. y col.** Elevated serum estradiol and testosterone concentrations are associated with a high risk for breast cancer. *Ann Intern Med.* 1999 130:270-277.
51. **Perel, E.; Killinger, D.W.** The interconversion and aromatization of androgens by human adipose tissue. *J Steroid Biochem.* 1979 10:623-627.
52. **Enriori, C.L.; Reforzo-Membrives, J.** Peripheral aromatization as a risk factor for breast and endometrial cancer in postmenopausal women. *Gynecol Oncol.* 1984 17:1-21.
53. **Pekonen, E.; Partanen, S.; Mäkinen, T. y col.** Receptors for epidermal growth factor and insulin-like growth factor I and their relation to steroid receptors in human breast cancer. *Cancer Res.* 1988 48:1343-1347.
54. **Bohn, H.; Krau, W.** Isolierung and charakterisierung eines neuen placentaspezifischen proteins (PP12). *Arch Gynecol.* 1980 229:279-291.
55. **Dunn, S.E.; Hardman, R.A.; Kari, F.W. y col.** Insulin-like growth factor I (IGF I) alter drug sensitivity of HBL100 human breast cancer cells by inhibition of apoptosis induced by diverse anticancer cells by inhibition of apoptosis induced by diverse anticancer drugs. *Cancer Res.* 1997 57:2687-2693.
56. **Daughaday, W.H.** Binding of corticosteroids by plasma proteins. III. The binding of corticosteroid and related hormones by human plasma and plasma protein fractions as measured by equilibrium dialysis. *J Clin Invest.* 1958 37:511-518.
57. **Enriori, P.J.; Vico, C.M.; Enriori, C.L.** Concentración, producción y metabolismo de esteroides en el tejido adiposo humano. Influencia en su distribución topográfica en las alteraciones endocrino-metabólicas: *Rev Arg Edocrinol Metab* 1994 31:139-147.
58. **Hara, M.; Koyanagi, Y.; Inoue, T. y col.** Some physico-chemical characteristic gamma-semiprotein: an antigenic component specific for human seminal plasma. *Japanese J Legal, Med.* 1971 25:322-324.
59. **Diamandis, E.P.; Yu, H.** Nonprostatic courses of

- prostate specific antigen. *Urol Clin North Amer.* 1997 24:274-282.
60. **Escobar-Morreale, H.F.; Serrano-Gotarredona, J.; Avila, F. y col.** The increased circulating prostate-specific antigen concentrations in women with hirsutism do not respond to acute changes in adrenal or ovarian function. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83: 2580-2584.
 61. **Kaulsay, K.K.; Ng, E.H.; Ji, C.Y. y col.** Serum IGFbinding protein-6 and prostate specific antigen in breast cancer. *Eur J Endocrinol.* 1999 140:164-168.
 62. **Fohrs, B.; Waitge, H.W.; Seibel, M.J.** Bone sialoprotein. In *Bone Markers. Biochemical and Clinical Perspectives.* Ed. Eastell R, Baumam M, Hoyle NR and Wiczirek L. Martín Dunitz Ltd, London cap.8 pag 83-91,2001.
 63. **Green, S.; Walter, P.; Kumar, V. y col.** Human oestrogen receptor cDNA sequence, expression and homology to v-erb A. *Nature* 1986; 320:134.
 64. **Walter, P.; Green, S.; Greene, G. y col.** Cloning of the human estrogen receptor cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985; 82:7889.
 65. **Gosden, J.R.; Middleton, P.G.; Rout, D.** Localization of the human oestrogen receptor gene to the chromosome 6q24/Eq27 by in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 1986; 43:218.
 66. **Ponglikitmongkol, M.; Green, S.; Chambon, P.** Genomic organization for the human oestrogen receptor gene. *EMBO J* 1988; 7:3385.
 67. **Garcia, T.; Lehrer, S.; Bloomer, W.D. y col.** A variant estrogen receptor messenger ribonucleic acid is associated with reduced levels of estrogen binding in human mammary tumors. *Mol Endocrinol* 1988; 2:785.
 68. **Garcia, T.; Sanchez, M.; Cox, J.L y col.** Identification of a variant form of the human estrogen receptor with an amino acid replacement. *Nucleic Acids Res* 1989; 17:8364.
 69. **Murphy, L.C.; Dotzlaw, H.** Variant estrogen receptor mRNA species detected in human breast cancer biopsy samples. *Mol Endocrinol* 1989; 3:687.
 70. **Fuqua, S.A.W.; Allred, D.C.; Elledge, R.M. y col.** The ER-positive/PgR-negative breast cancer phenotype is not associated with mutations within the DNA binding domain. *Breast Cancer Res Treat* 1993; 26:191.
 71. **Dotzlaw, H.; Alkhalaf, M.; Murphy, L.C.** Characterization of estrogen receptor variant mRNAs from human breast cancers. *Mol Endocrinol* 1992; 6(5):773.
 72. **Fuqua, S.A.W.; Fitzgerald, S.D.; Chamness, G.C. y col.** Variant human breast tumor estrogen receptor with constitutive transcriptional activity. *Cancer Res* 1991; 51(1):105.
 73. **Fuqua, S.A.W.; Fitzgerald, S.D.; Allred, D.C. y col.** Inhibition of estrogen receptor action by a naturally occurring variant in human breast tumors. *Cancer Res* 1992; 52:483.
 74. **Pasqualini, J.R.; Chetrite, G.; Blacker, C. y col.** Concentration of estrone, estradiol, estrone sulfate, and evaluation of sulfatase and aromatase activities in pre- and post-menopausal breast cancer patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 1996; 81 (April issue).
 75. **Assicot, M.; Contesso, G.; Bohuon, C.** Catechol-o-methyltransferase in human breast cancer. *Eur J Cancer* 1977; 13:961-966.
 76. **Hoffman, A.R.; Paul, S.M.; Axelrod, J.** Catechol estrogen synthesis and metabolism by human breast tumors in vitro. *Cancer Res* 1979; 39:3584-3587.
 77. **Abul-Hajj, Y.J.; Thijssen, J.H.H.; Blankenstein, M.A.** Metabolism of estradiol by human breast cancer. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1988; 24:1171-1178.
 78. **Schneider, J.; Huh, M.M.; Bradlow, H.L. y col.** Antiestrogen action of 2-hydroxyestrone on MCF-7 human breast cancer cells. *J Biol Chem* 1984; 259:4840-4845.
 79. **Vandewalle, B.; Lefebvre, J.** Opposite effects of estrogen and catecholestrogen on hormone-sensitive breast cancer cell growth and differentiation. *Mol Cell Endocrinol* 1989; 61:239-246.
 80. **Pasqualini, J.R.; Chetrite, G.; Nguyen, B.L. y col.** Estrone sulfate-sulfatase and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase activities: a hypothesis for their role in the evolution of human breast cancer from hormone-dependence to hormone-independence. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1995; 53:407-412.
 81. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 676-89.
 82. **Weinberg, R.A.** Tumor suppressor genes, *Science*, 254: 1138, 1991.
 83. **Hall, J.M.; Lee, M.K.; Newman, B. y col.** Linkage of early-onset familial breast cancer to chromo-

- some 17q21. *Science* 250: 1684-1689, 1990.
84. Breast Cancer Linkage Consortium: Pathology of familial breast cancer: differences between breast cancers in carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations and sporadic cases. *Lancet* 349: 1505-1510, 1997
85. **Joukov, V.; Chen, J.; Fox, E.A. y col.** Functional communication between endogenous BRCA1 and its partner, BARD1, during *Xenopus laevis* development, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90 (2001) 12078– 12083.
86. **Irminger-Finger, I.; Leung, W.C.; Li, J. y col.** Identification of BARD1 as mediator between proapoptotic stress and p53-dependent apoptosis, *Mol. Cell* 8 (2001) 1255– 1266.
87. **Rodriguez, J.A.; Schuechner, S.; Au, W.W.Y. y col.** Nuclear-cytoplasmic shuttling of BARD1 contributes to its proapoptotic activity and is regulated by dimerization with BRCA1, *Oncogene* 23 (2004) 1809– 1820.
88. **Scully, R.; Livingston, D.M.** In search of the tumour-suppressor functions of BRCA1 and BRCA2, *Nature* 408 (2000) 429– 432.
89. **Vega, A.; Torres, M.; Martinez, J.I. y col.** Analysis of BRCA1 and BRCA2 in breast and breast/ovarian cancer families shows population substructure in the Iberian peninsula. *Ann Hum Genet* 2002. (66): 29-36.
90. *Expert Reviews in Molecular Medicine* by Cambridge University Press 2001.
91. **Fabbro, M.; Schuechner, S.; Wendy, W.Y. y col.** ARD1 regulates BRCA1 apoptotic function by a mechanism involving nuclear retention, *Experimental Cell Research* 666 298 (2004) 661–673.
92. Health New York State Department of. Genetic susceptibility to breast and ovarian cancer: assessment, counseling and testing guidelines. 1999.
93. **Haffty, B.G.; Harrold, E.; Khan, A.J. y col.** Outcome of conservatively managed early-onset breast cancer by BRCA1/2 status. *Lancet* 2002. 359: 1471-1477.
94. National Cancer Institute. USA. *Genetics of Breast and Ovarian Cancer.* 2002
95. **Satagopan, J.M.; Offit, K.; Foulkes, W. y col.** The lifetime risks of breast cancer in Ashkenazi Jewish carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2001. 10: 467-473.
96. **Ford, D.; Easton, D.F.; Stratton, M. y col.** Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in Breast cancer families. *Am J Human Genetics* 1998. 62 (3): 676-689.
97. Health New York State Department of. Genetic susceptibility to breast and ovarian cancer: assessment, counseling and testing guidelines. 1999.

“Amar a las personas significa sentir sus necesidades y participar de sus pesares”

MARTIN BUBER