

## Pronóstico de supervivencia para la expresión de Bcl-2 en carcinoma mamario triple negativo

Misael Gómez Franco<sup>1</sup> y Elvira Olivia Bieletto Trejo<sup>2</sup>

### RESUMEN

**Antecedentes:** los carcinomas mamaros triple negativo (CMTN) son neoplasias agresivas de mal pronóstico, alta recurrencia y sin tratamiento específico. Ning Zhang *et al.* encontraron la expresión de Bcl-2 en 25% de los casos con CMTN de manera incidental, sin encontrar una relación estadística significativa.

**Objetivos:** determinar el valor pronóstico de supervivencia, a 5 años, de la expresión de Bcl-2 en pacientes con cáncer de mama triple negativo.

**Material y método:** estudio observacional, transversal, descriptivo de tipo retrolectivo en el que se seleccionaron casos con CMTN del archivo de Patología del Centro Médico Nacional "20 de noviembre"; se revisaron las laminillas y se corroboró el diagnóstico; se realizó inmunotinción para Bcl-2 y se estudiaron variables anatomopatológicas y clínicas. La información se analizó con el programa estadístico SPSS 17, análisis descriptivo e inferencial.

**Resultados:** del universo de pacientes (135) cumplieron criterios de selección 31 biopsias con CMTN. Expresó Bcl-2 16%; el análisis de supervivencia de pacientes con CMTN y expresión de Bcl-2 a 5 años mostró un riesgo relativo (RR) de 2.8 (IC95: 1.8-4 y  $p = 0.05$ ).

**Discusión:** el presente trabajo aporta evidencia estadísticamente significativa para el pronóstico de supervivencia en pacientes con CMTN que expresan Bcl-2. Se ofrece, además, información para la estadificación y el tratamiento de este tipo de casos.

**Conclusión:** las pacientes con carcinomas mamaros triple negativo, Bcl-2 positivas, tienen una probabilidad de supervivencia a 5 años 2.8 veces mayor que las que no lo expresan.

**Palabras clave:** Bcl-2, supervivencia, carcinoma mamario triple negativo.

### ABSTRACT

**Background:** Triple negative breast carcinomas (TNBC) are aggressive tumors with a poor prognosis, high recurrence and no specific treatment. Ning Zhang, *et al.* incidentally found the expression of bcl-2 in 25% of TNBC, without a statistically significant relationship.

**Aim:** To determine the prognostic value of 5-year survival of bcl-2 expression in patients with triple-negative breast cancer.

**Material and Methods:** Observational, transversal, descriptive and retrolective. The cases were selected of pathology files at Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" with diagnostic of TNBC, slides were reviewed and confirmed diagnosis, was performed immunohistochemistry staining for bcl-2 and studied pathological and clinical variables. Data were analyzed with SPSS 17, descriptive and inferential analysis.

**Results:** Of the universe (135) met the selection criteria with TNBC 31 biopsies, 16% expressed bcl-2, the survival analysis of patients with TNBC and expression of bcl-2 to 5 years showed a RR of 2.8 (95 1.8-4 p 0.05).

**Discussion:** This study shows a statistical significance for the survival of patients with TNBC expressing bcl-2, with these results provides information for stratification and therapeutic management of cases of TNBC.

**Conclusion:** The triple negative breast carcinomas bcl-2 positivo, have a greater chance of living in five years from 2.8 times than not express it.

**Key words:** Bcl-2, survival, triple negative breast carcinoma.

<sup>1</sup> Especialista en Anatomía Patológica egresado del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre".

<sup>2</sup> Especialista en Anatomía Patológica adscrita al departamento de Patología del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre".

Correspondencia: Dr. Misael Gómez Franco. Manuel Ávila Camacho 720, col. San Felipe, Cosamaloapan, Veracruz, C.P. 95400. Correo electrónico: misael\_1982@hotmail.com

Recibido: diciembre 2012. Aceptado: febrero 2013.

Este artículo debe citarse como: Gómez Franco M, Bieletto Trejo EO. Pronóstico de supervivencia para la expresión de Bcl-2 en carcinoma mamario triple negativo. *Patología Rev Latinoam* 2013;51(2):89-94.

[www.revistapatologia.com](http://www.revistapatologia.com)

La Organización Mundial de la Salud define al carcinoma infiltrante de mama como un grupo de tumores malignos epiteliales caracterizados por la invasión a tejidos adyacentes y marcada tendencia a la metástasis.<sup>1</sup> En México representa 17.29% del total de las neoplasias registradas y ocupa el segundo lugar de mortalidad en las mujeres.<sup>2,3</sup> Es una enfermedad multifactorial cuyas causas incluyen factores como la alimentación y el estilo de vida, hormonas endógenas y exógenas, tabaquismo, factores reproductivos, herencia, edad, y recientemente se ha asociado con la infección por virus del papiloma humano.<sup>1,4,5</sup>

El término *carcinoma mamario triple negativo* proviene de la clasificación propuesta en 2006 por Carey *et al.*<sup>6,7</sup> Representan de 10 a 15% de las neoplasias malignas mamarias, *histopatológicamente* los patrones morfológicos varían en las series, son de alto grado, alta actividad mitótica y mitosis atípicas, marcado pleomorfismo y atipia nuclear, necrosis abundante, tamaño mayor de 2 cm, invasión linfática y metástasis; *clínicamente* las pacientes son diagnosticadas en edades tempranas, la mayoría son premenopáusicas, con mayor frecuencia en la raza afroamericana, tienen alta recurrencia y respuesta variable al tratamiento ya que carecen de uno específico; tienen alta tasa de mortalidad, historial hereditario elevado y se han asociado con las mutaciones del gen BRCA1. Pobre pronóstico con elevado índice de recurrencia y mortalidad a 5 y 10 años.<sup>8-10</sup>

La familia Bcl-2 (linfoma/leucemia de células B) está compuesta por moléculas cuya función es regular la apoptosis.<sup>11</sup> La sobreexpresión de la proteína es resultado de la translocación cromosómica t (14; 18) entre el Bcl-2 y la inmunoglobulina de cadena pesada (IGH), produciendo resistencia a la apoptosis.<sup>11-13</sup>

En 1997 Hy-De Lee informó en 91 pacientes la asociación de carcinoma ductal infiltrante con la expresión de Bcl-2 (49.4% de los casos) la cual se asoció con una supervivencia de 97.6% a 15 meses de seguimiento.<sup>14</sup> Grace, en 2006, reportó supervivencia de 70% a 10 años en pacientes (930) que expresaban Bcl-2, comparado con la supervivencia de 45% para pacientes Bcl-2 negativos.<sup>12</sup> Se ha propuesto que la expresión de Bcl-2 se relaciona con la presencia de receptores de estrógeno en 76%,<sup>15</sup> lo cual se ha asociado de igual manera con tasas de supervivencia de hasta 59.5% de los pacientes con carcinoma mamario Bcl-2 positivo pero de 8.6% en los Bcl-2 negativos; de tal manera que la combinación de receptores hormonales y Bcl-2 se considera como marcador pronóstico independiente de supervivencia.<sup>13,16-18</sup> Mediante polimorfismos genéticos Zhang *et al.* estudiaron 114 carcinomas ductales, 15.5% fueron triple negativo de los cuáles sólo 25% expresaron Bcl-2 homocigoto sin encontrar asociación estadística significativa ( $p = 0.444$ ).<sup>19</sup> Por otro lado, Kallel-Bayoudh I *et al.*, en 2010,<sup>20</sup> encontraron la relación de la expresión de Bcl-2 y triple negativo significativa con una  $p = 0.02$ . El objetivo del presente trabajo es determinar el valor pronóstico de supervivencia a 5 años de la expresión de Bcl-2 en pacientes con carcinoma mamario triple negativo.

## Material y método

Se trata de un estudio observacional, transversal, descriptivo de tipo retrolectivo.

*Criterios de inclusión:*

- Pacientes con carcinoma de mama triple negativo.
- Pacientes que cuenten con tejido en parafina adecuado para realización de cortes histológicos.

*Criterios de exclusión:*

- Pacientes con metástasis mamaria de tumor primario en otro órgano.

*Criterios de eliminación:*

- Pacientes con información incompleta en el expediente clínico: supervivencia; edad de diagnóstico; uso de hormonas exógenas simples o combinadas, naturales o sintéticas; edad de menarca, menopausia al momento del diagnóstico, herencia, metástasis.

Del registro de biopsias del servicio de Patología del CMN 20 de Noviembre se seleccionaron los casos de pacientes diagnosticadas como carcinoma mamario triple negativo del periodo del 1 de enero de 2006 al 31 de diciembre de 2011; se revisaron todos los cortes histológicos con tinción de hematoxilina-eosina e inmunohistoquímica para receptores de estrógenos, progesterona y Her-2neu, para verificar el diagnóstico según los criterios de la escala de Allred para los receptores hormonales y el reporte de resultados de inmunohistoquímica para el HER-2 establecidos en el *Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Invasive Carcinoma of the Breast* publicado por el Colegio Americano de Patólogos en 2011.

Después de la verificación del diagnóstico se realizaron nuevamente cortes de 4 micras en regiones seleccionadas con técnica de microarreglos que consiste en la obtención de biopsias de regiones con buena calidad del tejido (con integridad celular y sin autólisis) para inmunotinción con *Monoclonal Mouse Anti-Human BCL 2 Oncoprotein Clone 124* (Dako) a dilución 1:75.

La evaluación histológica para determinar el grado y tipo histológicos se realizó de acuerdo con los criterios de Nottingham y la clasificación vigente para el carcinoma mamario de la Organización Mundial de la Salud, respectivamente. La observación de las laminillas teñidas con hematoxilina-eosina fue mediante microscopía óptica de luz a 10x y 40x.

La evaluación de la inmunotinción para Bcl-2 se realizó por microscopía de luz a 40x, se consideró como positiva con inmunorreacción en citoplasma o en la región peri-

nuclear de células neoplásicas y negativa con la ausencia de la misma.

Los cortes histológicos sometidos a inmunotinción para Bcl-2 fueron divididos en dos grupos: 1) Bcl-2 positivo y 2) Bcl-2 negativo.

Los resultados histopatológicos se correlacionaron con los datos de los expedientes clínicos de cada paciente en función de la supervivencia.

Para el análisis de la información utilizamos el programa estadístico SPSS 17.0 para Windows. Kaplan-Meyer para evaluar la supervivencia. El análisis descriptivo con promedio, desviación estándar, números absolutos y porcentajes. El análisis inferencial con tablas de contingencia  $2 \times 2$ ,  $\chi^2$  y correlación de Spearman. Se consideró estadísticamente significativo IC95 y  $p < 0.05$ .

### Resultados

El universo se compuso de 135 casos diagnosticados como carcinoma mamario triple negativo de los cuales 31 cumplieron con los criterios de inclusión.

El promedio de edad al momento del diagnóstico de las pacientes fue de  $50 \pm 14$  años con un rango de 17 a 81 años y edad de menarca promedio de  $12 \pm 1$ .

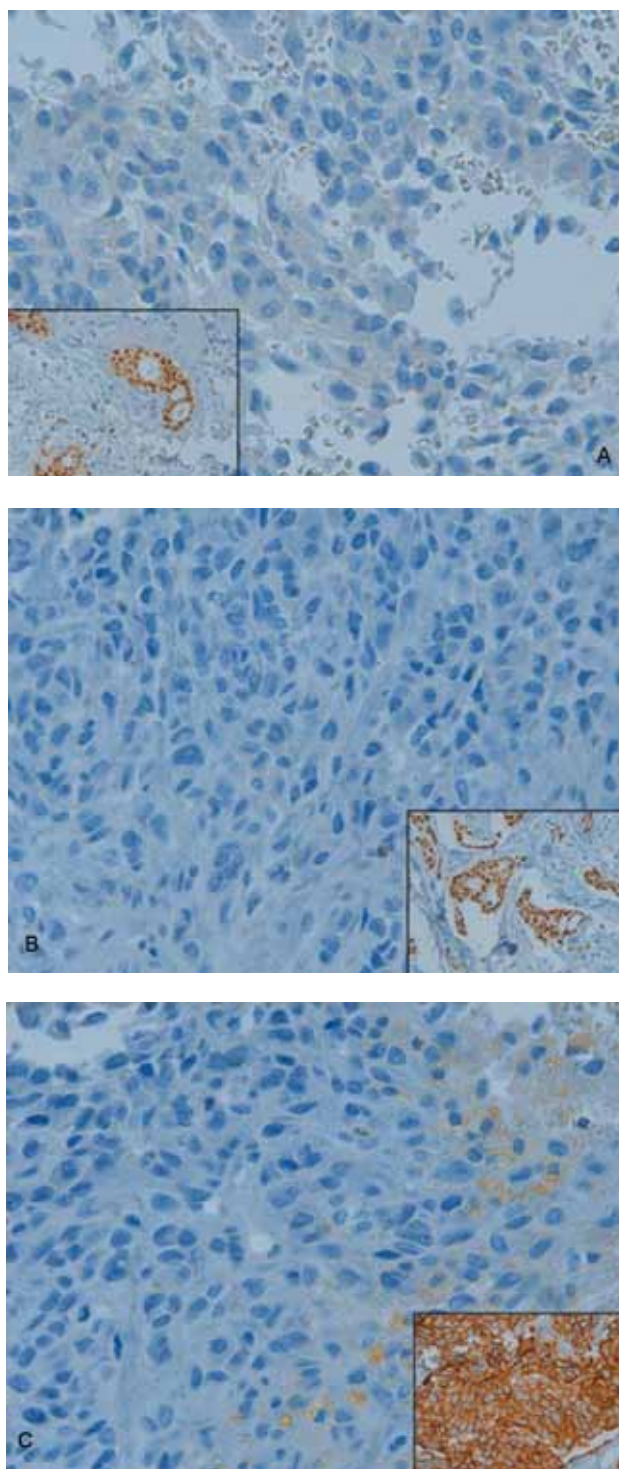
La mayoría de las biopsias se encontró en un grado III (80%). 16% (cinco casos) presentaron inmunorreacción positiva para Bcl-2 y 39% con carga genética para cáncer de mama (cuadro 1, figuras 1 y 2).

El análisis de la supervivencia mostró supervivencia a 5 años de 2.8 (IC95: 1.8–4;  $p = 0.05$ ) (cuadro 2).

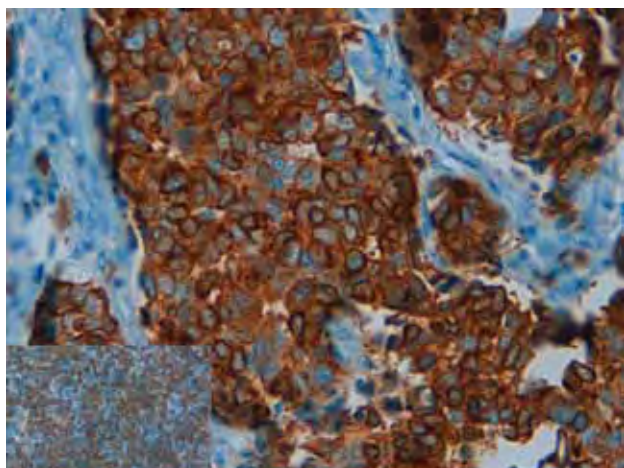
La supervivencia promedio de las pacientes Bcl-2 positivo es de 4 años (48.5 meses,  $n = 4$ , 80%); la de las pacientes Bcl-2 negativo es de 1.5 años (18.3 meses,  $n = 10$ , 38.46%)  $p = 0.012$  (figura 3).

**Cuadro 1.** Análisis descriptivo del estudio

Parámetro	n	%
Grado histológico		
II	6	20
III	25	80
Metástasis	18	58
Bcl-2 positivo	5	16
Supervivencia general	14	45
Menopausia al diagnóstico	17	55
Hormonas	3	10
Herencia	12	39



**Figura 1.** Inmunotinción en el carcinoma mamario triple negativo (inmunoperoxidasa 40×). a) y b) corresponden a receptores hormonales estrógeno y progesterona; c) a Her2-neu. Los insertos muestran a los controles adecuados para cada anticuerpo.



**Figura 2.** Inmunotinción con Bcl-2 en un carcinoma mamario triple negativo (inmunoperoxidasa 40x). Inmunorreacción citoplasmática y perinuclear, inserto con control del anticuerpo.

**Cuadro 2.** Tabla de contingencia de 2 x 2. Supervivencia/inmunorreacción a Bcl-2

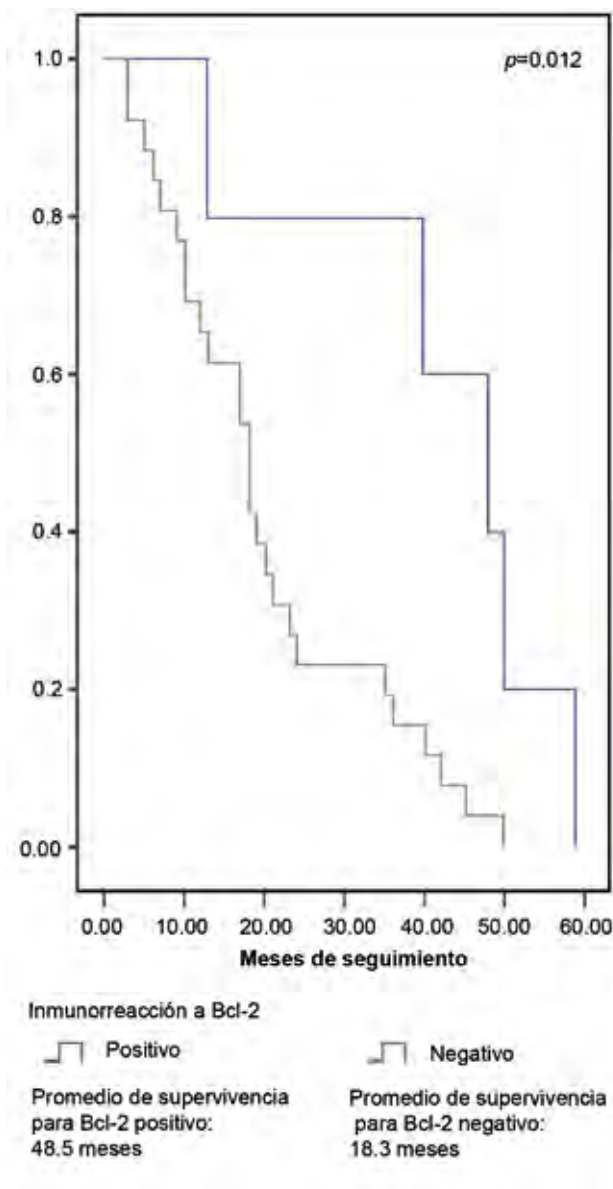
	Vivos	Muertos	n
BCL-2 +	4	1	5
BCL-2 -	10	16	26
	14	17	31

El análisis de variables mostró una relación significativa de la expresión de Bcl-2 con mayor supervivencia,  $r = 0.30$ ;  $p = 0.05$ , el resto de las variables analizadas no mostró ser estadísticamente significativo (cuadro 3).

### DISCUSIÓN

Se sabe que el carcinoma mamario triple negativo es un grupo de neoplasias de características anatomoclínicas que definen su agresividad. Se le considera una neoplasia de mal pronóstico, de altas mortalidad y recurrencia; sin embargo, con el análisis de nuevos marcadores que indiquen una supervivencia favorable y la posibilidad de nuevas opciones terapéuticas; esta puede cambiar.

En esta investigación se seleccionaron de manera exclusiva carcinomas mamaros triple negativo (a diferencia de las demás series)<sup>(6,8,9,19,20)</sup> y se analizaron las variables del estudio. La que mostró un valor estadístico relacionado con un pronóstico favorable de supervivencia (RR = 2.8 [IC95: 1.8–4;  $p = 0.05$ ]) fue la expresión de Bcl-2 que otros



**Figura 3.** Curva de supervivencia Kaplan-Meier para inmunorreacción a Bcl-2.

autores han estudiado en diversas series y encontrado, de la misma manera, un pronóstico favorable en carcinomas mamaros que no son triple negativo. La variable que presentó una relación inversa con la supervivencia fue la metástasis ya que, biológicamente, es el principal indicador de malignidad de una neoplasia.

Las lesiones que se clasificaron como de alto grado y “sin patrón (histológico) específico” mostraron cierta

**Cuadro 3.** Correlación entre supervivencia y otras variables del estudio

Parámetro	r	p
Bcl-2 positivo	0.30	0.05
Grado histológico	0.21	0.25
Variante histológica	0.02	0.88
Metástasis	0.14	0.42
Edad de diagnóstico	0.11	0.52
Edad de menarca	0.09	0.60
Menopausia al diagnóstico	0.17	0.35
Hormonas	0.07	0.67
Herencia	0.05	0.76

relación; cabe mencionar que de los cinco casos que expresaron Bcl-2 los cuatro que sobrevivieron pertenecían a este grupo histológico, el otro caso fue del tipo medular. El grado III tiene 1.6 veces mayor probabilidad

de sobrevivir a 5 años que el grado II; sin embargo, este dato debe tomarse con reserva debido a la desigualdad en el número de casos.

Se encontró un predominio de mujeres menopáusicas en el estudio, lo que coincide con la edad promedio del diagnóstico ( $50 \pm 14$  años). Existe una relación estadísticamente significativa entre la edad de la menarca y el grado histológico, sin tener un significado biológico coherente.

En el presente estudio el tamaño de muestra fue pequeño, por lo que hay que considerar la posibilidad de ampliarlo; si bien está establecido que el diseño metodológico de estos tipos de estudio se puede realizar mediante microarreglos de ADNc (en poblaciones pequeñas) o bien inmunohistoquímica (para mayor población) también lo está que los resultados positivos de esta última en poblaciones pequeñas no demeritan su valor. Se muestra una tabla donde se comparan estudios similares al nuestro (cuadro 4).

**Cuadro 4.** Comparación de nuestro estudio con otros<sup>7-9</sup>

	Carey 2006 <sup>7</sup>	Muñoz 2009 <sup>8</sup>	Quirós 2010 <sup>9</sup>	Nuestro estudio 2012
n	131 (26.4%)	26 (10.74%)	40 (18 %)	31 (100%)
<b>Grado histológico</b>				
I	6.1	38.5	7.5	0
II	15.2		20	19.4
III	77	61.5	57.5	80.6
<b>Variante histológica</b>		NE		
Sin patrón específico	80.1		67.5	67.7
Lobulillar	1.5		12.5	0
Mixto	8.3		0	0
Medular	Comparte 80.1		5	9.7
Metaplásico	8.3		2.5	22.6
Otros			12.5	0
<b>Menopausia</b>			NE	
Premenopáusica	65.6	26.9		45.2
Posmenopáusica	34.4	73.1		54.8
<b>Herencia</b>	NE		NE	
Sí		26.9		38.7
No		73.1		61.3
<b>Hormonoterapia</b>	NE		NE	
Sí		0		9.7
No		100		90.3
<b>Metástasis</b>				
Presente	38.1	26.9	30	58.1
Ausente	61.9	73.1	70	41.9
<b>Edad de diagnóstico</b>	46	59.8	54	50
<b>Supervivencia</b>			NE	
Sí	26	26.9		45.2
No	74	73.1		54.8
<b>Bcl-2</b>	NE	NE	NE	
Positivo				16.1
Negativo				83.9
<b>Valor pronóstico (RR)</b>				2.8

NE: no estudiado; n = % de la muestra que corresponde a los carcinomas mamarios triple negativo. Comparte 80.1% entre el medular y el "sin patrón específico" (los autores no especifican).

Nota: sólo han sido incluidas las variables del presente estudio.

Con estos resultados se aporta información para la estadificación y el manejo terapéutico de las pacientes con carcinoma mamario triple negativo, dando lugar a futuras investigaciones con diseño metodológico similar, ampliando el número de muestra e incluyendo otras variables; o bien la realización de estudios para evaluar el valor pronóstico o predictivo frente a la terapéutica.

### Conclusiones

El presente trabajo evidencia una supervivencia favorable estadísticamente significativa, para las pacientes con carcinoma mamario triple negativo que expresan Bcl-2, manifestada como una probabilidad 2.8 veces mayor de vivir a 5 años en comparación con las que no lo expresan.

### REFERENCIAS

- IO Ellis. Tumours of the breast. En Tavassoli Fattaneh A, editor. Pathology and genetics. Tumours of the breast and female genital organs: OMS IARC 2003. p. 13-19.
- Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas, Secretaría de Salud; México 2003.
- Knaul FM, Nigenda G, Lozano R, Arreola-Ornelas H y col. Cáncer de mama en México: una prioridad apremiante. Salud Publica Mex 2009;51 supl 2:S335-S344.
- Damin AP, Karam R, Zettler CG, Caleffi M, Alexandre CO. Evidence for an association of human papillomavirus and breast. Breast Cancer Research and Treatment 2004;84:131-137.
- Cantú de León, Pérez MD, Nemcova J, Mykyscova I, et al. Human Papillomavirus (HPV) in breast tumors: prevalence in a group of Mexican patients. Br J Cancer 2009;9:26. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/9/26>
- Zepeda-Castilla EJ, Recinos-Money E, Cuéllar-Hubbe M, Robles-Vidal CD, Maafs-Molina E. Clasificación molecular del cáncer de mama. Cir Ciruj 2008;76:87-93.
- Carey L, Perou Ch, Libasy Ch, Dressler L, et. al. Race, Breast Cancer Subtypes, and Survival in the Carolina Breast Cancer Study. JAMA 2006;295:2492-2502.
- Quirós-Alpizar J, Jiménez-Rodríguez Y, Jiménez-Montero E, Monge-Viquez M, Salazar-Sánchez L. Carcinomas invasores triple negativo de la glándula mamaria: incidencia y características clínico patológicas. Acta méd costarric 2010;52:90-95.
- Mar Muñoz, M. Jesús Fernández-Aceñero, Silvia Martín, José Schneider. Prognostic significance of molecular classification of breast invasive ductal carcinoma. Arch Gynecol Obstet 2009;280:43-48.
- Marc PJ Mc Cafferty. Breast cancer subtypes and molecular biomarkers. Diagnostic Histopathology 2009;15:485-489.
- Placzek WJ, Wei J, Kitada S, Zhai D, et al. A survey of the anti-apoptotic Bcl-2 subfamily expression in cancer types provides a platform to predict the efficacy of Bcl-2 antagonists in cancer therapy. Cell Death and Disease 2010;1:e40.
- Callagy GM, Pharoah PD, Pinder SE, Hsu FD, et. al. Bcl-2 Is a Prognostic Marker in Breast Cancer Independently of the Nottingham Prognostic Index. Clin Cancer Res 2006;12:2468-2475.
- Vivek Bhargava, Donna L. Kell, Maft van de Rijn, Roger A. Warnke. Bcl-2 Immunoreactivity in Breast Carcinoma Correlates with Hormone Receptor Positivity. AJP 1994;145:335-340.
- Leek RD, Kaklamanis L, Pezzella F, Gatter KC, Harris AL. Bcl-2 in normal human breast and carcinoma, association with oestrogen receptor- positive, epidermal growth factor receptor-negative tumours and in situ cancer. Br J Cancer 1994;69,135-139.
- Hy-De Lee, Ja Yun Koo, Woo Hee Jung. Correlations of bcl-2 expression with clinicopathological features in breast cancer. Yonsei Medical Journal 1997;38(4):206-211.
- Dos Santos LG, Lopes-Costa PV, dos Santos AR, Facina G, da Silva BB. Bcl-2 oncogene expression in estrogen receptor-positive and negative breast carcinoma. Eur J Gynaecol Oncol 2008;29:459-61.
- Sjöström-Mattson J, Von Boguslawski K, Bengtsson NO, Mjaland I, et. al. The expression of p53, bcl-2, bax, fas and fasl in the primary tumour and lymph node metastases of breast cancer. Acta oncológica 2009;48:1137-1143.
- van Slooten HJ, Clahsen PC, van Dierendonck JH, Duval C, et al. Expression of BCL-2 in node-negative breast cancer is associated with various prognostic factors, but does not predict response to one course of perioperative chemotherapy. British Journal of Cancer 1996;74:78-85.
- Zhang N, Li X, Tao K, Jiang L, et al. BCL-2 (-938C > A) polymorphism is associated with breast cancer susceptibility. BMC Medical Genetics 2011;12:48.
- Kallel-Bayoudh I, Hassen HB, Khabir A, Boujelbene N, et al. Bcl-2 expression and triple negative profile in breast carcinoma. Med oncol 2010;28:55-61.