

METÁSTASIS CUTÁNEAS DE CÁNCER DE MAMA



Centro de Investigaciones Inmunológicas Básicas y Aplicadas (CINIBA)

Expositora: Dra. CROCE, Ma. Virginia

Grupo de trabajo: Méd. A. M. Luna, Dra. M. Isla Larrain, Dr. M. E. Rabassa, Méd. P. Cabaleiro, Dr. A. O. Zwenger, Dra. R. Canzoneri, Dr. M. C. Abba, Dra. A. Segal-Eiras

<http://multisitio.sedici.unlp.edu.ar/ciniba-centro-de-investigaciones-inmunologicas-basicas-y-aplicadas>
mariavirginacroce@gmail.com | mvcroce@med.unlp.edu.ar

INTRODUCCIÓN

En Argentina, el principal tipo de cáncer en las mujeres es el de mama, tanto en incidencia como en mortalidad, la cual es semejante al de países desarrollados, siendo la mortalidad mayor en nuestro país¹. El cáncer de mama se disemina a distancia (metástasis a distancia) a hueso, pulmón, cerebro, hígado y piel, siendo el tipo de tumor que más frecuentemente da metástasis cutáneas (sin considerar el cáncer de piel). La caracterización de marcadores pro-metastásicos puede llevar a la identificación de pacientes con alto riesgo, dentro de los que se encuentra la mucina de tipo 1 o MUC1. MUC1 es traducida como un único polipéptido que sufre autoclivaje en dos subunidades: el ectodominio de MUC1 (MUC1-N) y la cola citoplasmática (MUC1-C) en el retículo endoplásmico². MUC1 forma un heterodímero estable a nivel de la membrana apical de las células epiteliales. MUC1 está implicada en la progresión metastásica a través de las dos subunidades². Durante la transformación maligna, MUC1-N se encuentra sobreexpresada, sufre glicosilación aberrante con síntesis de cadenas cortas de carbohidratos (uMUC1) y se expresa a nivel de toda la membrana plasmática, así como en el citosol³. Dentro de las cadenas cortas de carbohidratos se han determinado antígenos Tn, T y del grupo Lewis y sus derivados sialilados⁴. Dentro de estos últimos, se ha encontrado al antígeno sialil Lewis x, implicado a la diseminación debido a su capacidad de unión a las selectinas de tipo E⁵.

El objetivo de este estudio es identificar perfiles correspondientes a la metástasis cutánea en el cáncer de mama mediante el análisis de marcadores tumorales tales como MUC1 y antígenos carbohidratos asociados.

¹ Sierra M. S., et al. *Cáncer patterns and trends in Central and South America. Cancer Epidemiol* 44 Suppl 1:S23-S42, 2016.

² Gendler S., MUC1 *The renaissance molecule. J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2001;6:339–353, 2001.

³ Croce, et al. *Expression of tumour associated antigens in normal, benign and malignant human mammary epithelial tissue: a comparative immunohistochemical study. Anticancer Res*, 17, 4287-4292, 1997.

⁴ Geng Y., et al. *Three to tango: MUC1 as a ligand for both E-selectin and ICAM-1 in the breast cancer metastasis cascade. Front Oncol*. 2012; 2:76.

⁵ Julien S., et al. *Selectin ligand sialyl-Lewis x antigen drives metastasis of hormone-dependent breast cancers. Cancer Res* 71: 7683-7693, 2011.

MATERIALES

Se estudiaron un total de 148 muestras fijadas en parafina: 69 de pacientes con cáncer de mama con metástasis cutánea: 26 tumores primarios y 30 lesiones cutáneas metastásicas.

En 21 pacientes se obtuvo una muestra del tumor primario y una de la lesión metastásica y en 13, una muestra de un ganglio comprometido.

Se obtuvo una muestra quirúrgica de metástasis cutánea sin fijar, la cual fue empleada para la obtención de fracciones subcelulares.

Se incluyeron 71 especímenes de tumores primarios de pacientes sin metástasis cutáneas y 8 ganglios axilares de las mismas pacientes.

Se consideraron las características histopatológicas de los tumores, así como los subtipos moleculares, mediante la determinación de receptores de estrógeno (RE), de progesterona (RP), Her2-neu y citoqueratinas 5/6.

Se analizó también una línea celular de cáncer de mama (ZR-75-1) que expresa MUC1, uMUC1 y sialil Lewis x. Fue cultivada en medio RPMI-1640 completo (SIGMA, USA) a 37°C, 5% CO₂ hasta subconfluencia. Esta línea fue utilizada como control en los experimentos.

MÉTODOS

Inmunohistoquímica estándar³: se determinó la expresión de MUC1 uMUC1, Tn, TF y Lewis x, sialil Lewis x empleando anticuerpos monoclonales: HMFG1, SM3, anti-Tn, anti-TF, KM380 y KM93, respectivamente. Los resultados fueron validados por RT-PCR.

Separación de fracciones subcelulares, inmunoprecipitación, SDS_PAGE y Western-blotting³: se homogeneizó una muestra de metástasis cutánea obtenida durante la cirugía y se separaron las fracciones subcelulares mediante centrifugación diferencial. Se realizó inmunoprecipitación con anticuerpo anti-uMUC1 y, posteriormente, se empleó SDS-PAGE seguido de *Western-blotting* para identificar las bandas.

Análisis estadístico: fue realizado mediante SPSS *statistics* (v24) *software*. El análisis univariado se realizó por la correlación tau de Kendall y el multivariado, mediante componente principal. Las variables tumorales consideradas fueron: edad del paciente al diagnóstico, estadio, grado histológico, grado nuclear, ER, PR y HER2-neu. Las diferencias estadísticas fueron consideradas significativas cuando fue $p < 0.05$.

PRINCIPALES RESULTADOS

Se halló un porcentaje mayor estadísticamente significativo de tumores de mama ER(-) PR(-) y Her2(-) o enriquecidos en Her2 en las pacientes con metástasis cutáneas en comparación con las que no las presentaban.

Los tumores primarios con metástasis cutáneas expresaron porcentajes mayores estadísticamente significativos: uMUC1 y sLewis x (diferencias significativas en relación a tumores primarios sin metástasis cutáneas).

Todas las metástasis cutáneas expresaron MUC1 y un alto porcentaje de las mismas también expresó uMUC1 (Figura 1), sLewis x y Tn.

Mediante el análisis de las fracciones subcelulares de una metástasis cutánea y su posterior inmunoprecipitación con uMUC1 y *Western-blotting* empleando anti-sialil Lewis x, se halló una banda de aproximadamente 200kDa (característica de uMUC1).

CONCLUSIONES

Los tumores primarios con metástasis cutáneas fueron más frecuentemente de subtipos malignos.

Los tumores primarios con metástasis cutáneas expresaron con mayor frecuencia uMUC1 y sialil Lewis x, respecto a los tumores primarios sin metástasis cutáneas.

Un mecanismo de la diseminación metastásica cutánea estaría mediado por uMUC1 que se demostró que es portadora de sLewis x.

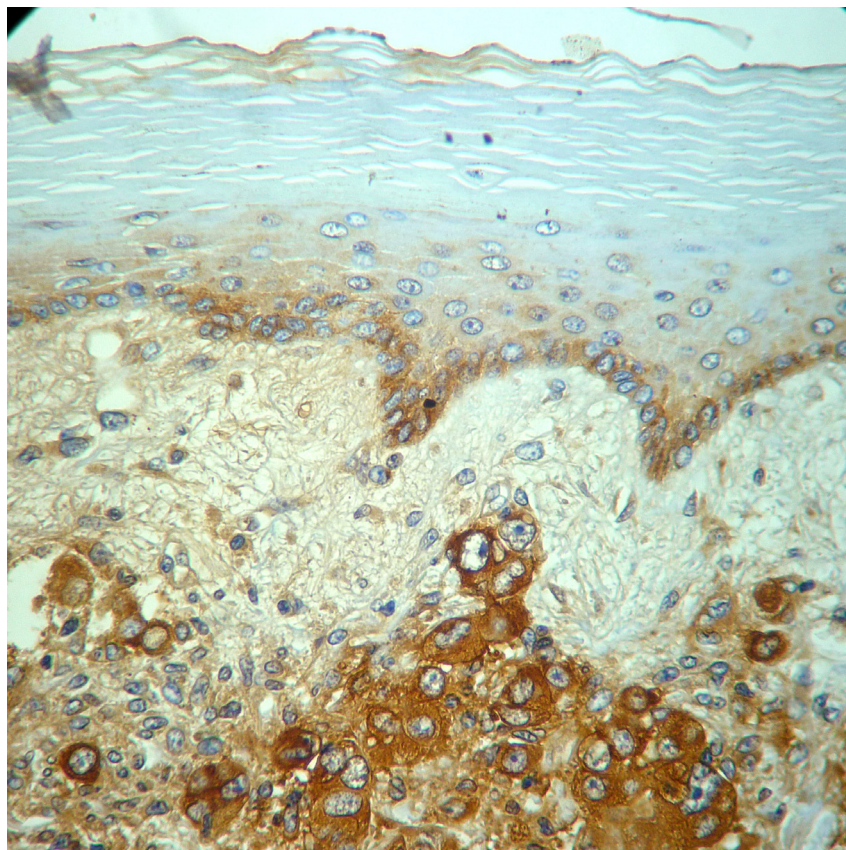


Figura 1. Microfotografía de una metástasis cutánea de cáncer de mama. Las células metastásicas en la dermis muestran una coloración marrón mediante su marcación por inmunohistoquímica con el anticuerpo monoclonal anti-uMUC1 (SM3) (40x)