

# Hallazgos citogenéticos en carcinoma ductal de mama.

*Alicia Rojas-Atencio, Leonardo González, Karelis Urdaneta, Marisol Soto-Alvarez, Minolfa Prieto-Carrasquero, Walevska Fulcado, Maribel Quintero, Ana Boscan y Francisco Alvarez Nava.*

Unidad de Genética Médica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

**Palabras clave:** Hallazgos citogenéticos, carcinoma ductal de mama.

**Resumen.** El carcinoma femenino de mama es un importante problema médico con implicaciones no solamente en salud sino también en la sociedad. A pesar de su gran importancia, poco es conocido acerca de los hallazgos cromosómicos de este tipo de cáncer y su relación con la clínica. Las anormalidades cromosómicas en algunas enfermedades malignas han sido usadas para diagnóstico y el pronóstico y para la localización de genes involucrados en patologías malignas. En este trabajo nosotros reportamos las anormalidades cromosómicas encontradas en 32 pacientes con carcinoma ductal primario de mama. En sólo uno de los tumores se observó un cariotipo normal, treinta y uno de ellos presentaron algún tipo de anomalía cromosómica, 21/32 (65,5%) correspondieron a anormalidades del cromosoma 1 (trisomías, monosomías, o anomalías estructurales como la t(1q;2p), y la del(1q42) ); otras anomalías observadas correspondieron a del(12p), del(4p), +7,+8,-7,-3. El significado de estos hallazgos y su papel en la tumorigénesis se hará más evidente a través del seguimiento estrecho de las pacientes que presentan este tipo de tumor y un cariotipo anormal.

## **Cytogenetic findings in breast ductal carcinoma.**

*Invest Clín 1999; 40(3): 179-189.*

**Key words:** Cytogenetic findings; breast ductal carcinoma.

**Abstract.** Breast cancer in women is an important medical problem with public health and social implications. In spite of its great clinical importance, little is known about the cytogenetic features of breast carcinomas. Chromosomal abnormalities in some malignant tumors have been used for diagnosis and prognosis or for localizing genes involved in the pathology malignancies. In this report, we present the chromosomal abnor-

---

malities found in 32 primary breast ductal carcinomas. The tumor samples were studied using the technique for short-term culturing and cytogenetic analysis with G-banding. Only one tumor with normal karyotype was observed. Thirty one (99%) of the tumors had chromosomal abnormalities including 21 (65,6 %) in which chromosome 1 was involved (trisomy, monosomy or structural abnormalities of the type  $t(1q;2p)$  and  $del(1q42)$ . Other recurrent anomalies such as  $del(12p)$ ;  $del(4p)$ ;  $+7$ ;  $+8$ ;  $-7$ ;  $-3$ ; were observed. The significance of these findings and their role in tumorigenesis will become more evident with close follow-up of women who have tumors with an abnormal karyotype.

*Recibido: 24-9-98. Aceptado: 4-5-99.*

## INTRODUCCIÓN

El carcinoma de mama femenino es uno de los mayores problemas médicos que existen en la actualidad, con un gran significado dentro de la salud pública en todas las ramas de la sociedad. Muchos avances se han dado durante los últimos 10 años, para entender la biología y la naturaleza clínica de esta enfermedad, sin embargo el problema aun persiste y se ha hecho cada vez más complejo. Por otro lado, la citogenética de los tumores sólidos ha experimentado grandes avances durante la última década sobre todo en aquellos tumores de mayor malignidad como lo es el cáncer de mama. Para principios de esta década sólo habían sido descritos 100 tumores de mama con cariotipos anormales (1), número que hoy llega a más de 500 (2). Sin embargo, esta información aun resulta insuficiente para realizar una comparación adecuada en relación con el pronóstico de la enfermedad (3,4), relación que ha sido ampliamente demostrada en otros tipos de neoplasias como son

las hematológicas malignas (5). Por otro lado, el hallazgo de que muchos tumores de mama presentan clones anormales cariotípicamente no relacionados parece ser de gran interés para revisar estas características citogenéticas (6). Así mismo, el convencimiento de que existen más de 1 gen involucrado en la patogénesis de esta enfermedad hace del estudio cromosómico una herramienta indispensable para la posible localización de los diferentes genes involucrados en esta patología. El objetivo de este trabajo es reportar las anomalías cromosómicas encontradas en los pacientes referidos a la Unidad de Genética Médica con diagnóstico de carcinoma ductal de mama.

## MATERIAL Y MÉTODO

Para la realización de este trabajo se usaron 32 muestras de tejido canceroso mamario, histológicamente reportados como carcinoma ductal, tanto *in situ* como invasivo, las cuales fueron recibidas en la Unidad de Genética Médica de La

Universidad del Zulia. El material para estudio citogenético fue obtenido a través de procedimientos quirúrgicos. El tejido fue colocado inmediatamente en medio RPMI 1.640, libre de suero, con 1% de penicilina-estreptomicina; se eliminaron todas las áreas necróticas y restos de sangre con sales balanceadas de Hanks suplementado con 2% de penicilina-estreptomicina por 3 ó 4 veces, luego fue cortado finamente con bisturí y colocados en frascos Falcon de 50 cc ( 3 por paciente). A cada frasco se le añadieron 3 cc de Amniomax, suplementado con suero fetal al 20% y 1% de glutamina y se incubaron por 72 a 96 horas y se recogieron siguiendo la técnica de Pandis y col (7). Las láminas fueron teñidas utilizando la tinción de Wright para bandeado GTG. Los cariotipos fueron determinados de acuerdo al Sistema Internacional de Nomenclatura Citogenética de 1995 (8). Fueron considerados clones anormales aquellos que presentaron 2 ó más anomalías estructurales y en el caso de pérdidas o ganancias de cromosomas éstas se consideran si se repetían 3 ó más veces (9).

## RESULTADOS

El tipo histológico, grado y cantidad de ganglios linfáticos infiltrados, se han señalado en la Tabla I.

Se pudo observar la complejidad de las anomalías cromosómicas encontradas en este tipo histológico de tumor. Las pérdidas y las ganancias cromosómicas fueron sumamente variables, fue casi inusual

que una célula fuese exactamente igual a la otra o presentasen el mismo cariotipo; sin embargo, fue frecuente encontrar pérdidas o ganancias individuales que se repetían en muchas de las células analizadas.

La edad de los pacientes de quienes procedía la muestra estuvo comprendida entre 31 y 65 años, con una edad media de 44 años. En sólo una de las 32 muestras analizadas se obtuvo un cariotipo normal, el 99% restante en su mayoría presentaron anomalías cromosómicas complejas, con asociación de anomalías cromosómicas estructurales y numéricas. Las anomalías del cromosoma 1 representaron las de mayor frecuencia 21/32 (65,6%); las mismas se presentaron en forma de monosomía, trisomía, tetrasomía, deleciones o rearrreglos estructurales tipo t(1q;2p) (Fig. 1a). La segunda anomalía más frecuente correspondió a la presencia de cromosomas marcadores en 17/32 (53,1%), la del (12p) (p11) (Fig. 1b), se encontró en 4/32 pacientes (12,5%). En 5/32 casos (15,6%) se encontró pérdidas de casi todos los cromosomas especialmente, del 6, 7 y 12, y en 3/32 pacientes (9,3%) se observaron ganancias de los cromosomas 6, 7 y 11. Otros rearrreglos estructurales correspondieron a del(17p), del(2p) y del(4p) (Tabla II).

## DISCUSION

La complejidad de las alteraciones cromosómicas observadas en cáncer de mama ha hecho difícil la interpretación de su significado.

**TABLA I****TIPO HISTOLÓGICO, GRADO TUMORAL E INVASIÓN A GANGLIOS LINFÁTICOS**

CASO	TIPO HISTOLÓGICO	GRADO	GANGLIOS LINFÁTICOS +
1	Ductal indiferenciado	III	5
2	Ductal Infiltrante (necrosis)	II	5
3	Ductal Infiltrante	III	4
4	Ductal Infiltrante (necrosis)	III	7
5	Ductal infiltrante	II	3
6	Ductal Infiltrante	III	6
7	Ductal Infiltrante (necrosis)	III	7
8	Ductal Infiltrante	II	10
9	Ductal Infiltrante (necrosis)	II	6
10	Ductal Infiltrante (necrosis)	II	5
11	Ductal Infiltrante (necrosis)	III	10
12	Ductal Infiltrante (necrosis)	II	14
13	Ductal Infiltrante	II	6
14	Ductal Infiltrante	III	0
15	Ductal Infiltrante (necrosis)	III	10
16	Ductal Infiltrante (necrosis)	II	6
17	Ductal Infiltrante Escirroso	II	0
18	Ductal Infiltrante	II	4
19	Ductal Infiltrante (necrosis)	III	0
20	Ductal Infiltrante	II	6
21	Ductal Infiltrante (necrosis)	III	10
22	Ductal Infiltrante	I	0
23	Ductal Infiltrante	II	6
24	Ductal Infiltrante (necrosis)	III	8
25	Ductal Infiltrante	II	0
26	Ductal Infiltrante	II	4
27	Ductal Infiltrante	II	5
28	Ductal Infiltrante (necrosis)	II	6
29	Ductal Indiferenciado	III	10
30	Ductal Infiltrante	I	6
31	Ductal Infiltrante	II	4
32	Ductal Infiltrante	II	8

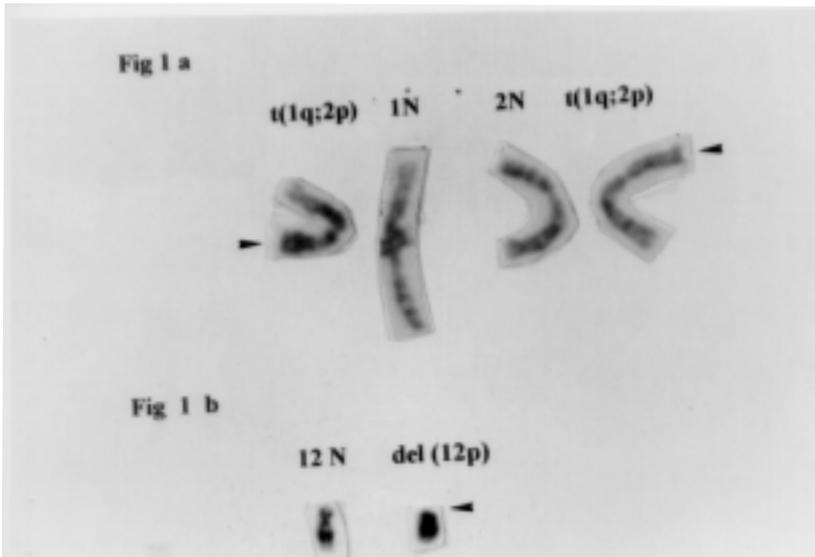


Fig. 1. Cariotipos parciales muestran: (a) Traslocación entre los brazos largos del cromosoma 1 y los brazos cortos del cromosoma 2. (b) Deleción de los brazos cortos del cromosoma 12.

Han sido reportadas considerables variaciones en el número de cromosomas; sin embargo, las alteraciones estructurales han sido altamente preservadas. El carcinoma ductal es uno de los reportados más frecuentemente, sin embargo las anomalías cromosómicas continúan siendo objeto de estudio y aún no se ha podido establecer una relación entre la aparición de anomalías cromosómicas y el pronóstico de la enfermedad. Se ha señalado a la presencia o no de infiltración ganglionar como parámetro pronóstico, así como también al grado del tumor (10). En este trabajo sólo 5 de 32 no presentaron infiltración ganglionar y no hubo diferencias significativas entre los grados del tumor y la complejidad de las anomalías cromosómicas.

Los rearrreglos estructurales que involucran el cromosoma 1 han sido reportados en aproximadamente el 80% de los cánceres de mama estudiados con rupturas alrededor de 1p11-13 y 1q21-23 y 1p36 (11). En 1995 Pandis (12) reportó el análisis cromosómico de 97 carcinomas primarios de mama identificando 8 subgrupos cariotípicos; a saber i(1)(q10), der(1;16), del(1q) (q11-12), del(3p) (p12-13, p14-21), del(6q) (q21-22) y anomalías numéricas como +7, +8 y +20. En este trabajo se presentaron anomalías del cromosoma 1 en el 65,6 % y las rupturas se encontraron a nivel de q42, la cual ha sido señalada como una anomalía de tipo clonal en carcinoma bilateral de mama (13), pero la mayor frecuencia fue la ganancia de cromosomas 1. Otra de las anoma-

**TABLA II**  
**ALTERACIONES CLONALES NUMÉRICAS Y ESTRUCTURALES EN CARCINOMA DUCTAL DE MAMA**

CASO	EDAD	ALTERACIONES CLONALES	MARCADORES NO IDENTIFICADOS
1	38	46,XX,t(1q;2p)(q42; p25) [4];46,XX[8]	0
2	43	47,XX + 1 [3], 60,XX, +1,+2,+3,+7 mar[3]; 46,XX [5].	
3	46	48,XX + 2 mar [3]; 48,XX,+1,+ mar [3]	9
4	65	46,XX,-1,-20,+ 2 mar [4];46,XX, del (5p)(p14) [3]	4
5	45	46,XX, -13,+ mar [3]; 46,XX [5]	6
6	40	47,XX,+1 [4], 48,XX,+1,+1 [3]; 46,XX [5]	0
7	54	46,XX, del (12p)(p11)[3]; 47,XX, del (12p)(p11),+2 mar[3] 46,XX [5]	6
8	34	49,XX, + 2 mar, +dm [3]; 39,XX,-1,-6,-7,-7,-8,-12,-19 [3]; 46,XX [4]	18
9	38	46,XX, del(12p)(p11) [6]; 48,XX,+1,+6 [2]; 46,XX [4].	0
10	40	46,XX, del (12p)(p11) [5]; 46,XX [7].	0
11	45	49,XX, +1,+3,+11 [4]; 52,XX, +1,+9,+11,+3 mar [3] 46,XX [5].	9
12	50	46,XX, del (12p)(p11)[3] cercano a la triploidía [5]; 46,XX [4]	0
13	31	43,XX, - 7,-11,-12 [8]; 46,XX [4]	0
14	43	49,X,-X,-7,-12,-4,+1,+ t(14q;15q ) [5]; 46,XX [8].	0
15	46	44,XX, -17,-22 [3]; cercano a la haploidía [5]; 46,XX [4]	0
16	58	45,XX,-2 [3]; 49,XX,+1, + 2 mar [4]; 46,XX [5]	8

TABLA II (Continuación)

CASO	EDAD	ALTERACIONES CLONALES	MARCADORES NO IDENTIFICADOS
17	37	36,XX, -1,-6,-7,-8,-11,-17,-17,-18,-21,-22 [3]; 47, XX, +mar [3]; 46,XX [5].	3
18	41	46,XX [12]	0
19	54	49,XX, +1,+2 mar [4]; 47,XX, +1 [5], 46,XX [5]	8
20	62	46,XX, del (17p)(p12) [3]; 46,XX [6]	0
21	52	46,XX, del(1q)(q42) [4];47,XX,+mar [3]; 46,XX [5]	3
22	47	46,XX [7]; 46,XX,del(2p)(p21)[4]	0
23	48	46,XX [6]; 47,XX,+1 [3]; 50,XX,+1,+2,+7 mar [4]	8
24	39	48,XX,+1,+7 [6], 47, XX, + mar [3]; 46,XX [5]	3
25	51	46,XX,del (1q)(q42) [4]; 46,XX [7]	0
26	43	46,XX,del (4p)(p15)[5]; 49,XX,+1,+2 mar [4];46,XX [5]	8
27	36	46,XX[4],47,XX,+1 [5];48,XX,+1,+mar [3]	3
28	50	46,XX,del (1q)(q42)[4];46,XX [7]	0
29	23	44,XX,-3,-6,-7,-8,+2 mar [3]; 46,XX [5]	6
30	40	45,XX, -2,- 4,-7,-11, +3 mar [3]; 46,XX [8]	9
31	39	48,XX,+1,+2 [4];46,XX [9]	0
32	58	49,XX,+1,+3,+ mar [4]; 46,XX [8]	4

lías señaladas dentro de estos subgrupos correspondió a la trisomía del cromosoma 7, las restantes anomalías no fueron reportadas en este trabajo. Las anomalías numéricas que involucran pérdidas o ganancias cromosómicas no han sido consideradas por algunos autores, a menos que las mismas se repitan en tres o más ocasiones (9). La identificación de anomalías cromosómicas numéricas clonales, ha sido un verdadero problema en los estudios cromosómicos de malignidades dada la heterogeneidad de los mismos. Las técnicas de citogenética molecular (FISH) están siendo utilizadas en la identificación de estas anomalías cromosómicas clonales con la finalidad de ser usadas como herramientas diagnósticas en cáncer de mama (14,15). En este estudio fue difícil encontrar cariotipos idénticos, pero se detectó clonalidad para algunos cromosomas tales como la pérdida de los cromosomas 6, 7 y 12 y ganancias de los cromosomas 1, 6, 7 y 11, hallazgos pocas veces reportados (2). Otro hecho importante fue la presencia de una deleción de los brazos cortos del cromosoma 12 (p11) en tres pacientes, dos de ellas hermanas, hecho que podría señalar la presencia de un nuevo gen supresor tumoral involucrado en esta patología, aún no reportado. Así mismo, la presencia de marcadores cromosómicos es otro de los problemas encontrados en esta patología, nosotros reportamos 17 casos con este tipo de hallazgo. Los cromosomas marcadores son considerados como cromosomas morfológicamente anor-

males, pudiendo corresponder a isocromosomas; o segmentos cromosómicos con o sin centrómero y en algunas ocasiones con segmentos invertidos (16). El significado de estos marcadores va a depender de la identificación adecuada de cada uno de ellos, mediante la utilización de técnicas citogenéticas especiales (17). Una clase general de alteraciones citogenéticas, que han mostrado tener importancia clínica son los procesos de amplificación génica. Citogenéticamente, estos procesos han sido señalados por la presencia de cromosomas diminutos dobles y regiones homogéneamente teñidas (hrs)(18). En 1998 Bernardino y col. (19) reportaron una frecuencia de 40% en 223 carcinomas mamarios. En este trabajo no se encontró este tipo de alteración y en sólo uno de los casos se reportó un cromosoma diminuto doble. La variabilidad observada tanto en este trabajo y en otros publicados en el ámbito mundial corroboran una vez más la heterogeneidad geográfica en la aparición de anomalías cromosómicas en los diferentes tumores (20) y la policlonalidad de este tipo de tumor (21,22), en cuya patogénesis se involucra mas de 1 gen.

Por otro lado, es importante señalar que hasta el momento se han identificado una secuencia sucesiva de eventos que han permitido establecer un modelo genético para cáncer colo-rectal (23), melanoma (24), y cáncer de vejiga (25); hecho que no ha podido establecerse en la tumorigénesis mamaria. Han sido clasificadas 3 alteraciones genéticas

establecidas en el siguiente orden: deleción 1q32, amplificación del gen MYC y deleción 11p15.5 (26). Esto ha sido cuestionado dado los cambios bioquímicos, histológicos, clínicos y sobre todo la heterogeneidad geográfica de este tipo de tumor. Biechi y col. (27) han propuesto un modelo genético para el cáncer de mama, sin embargo es necesario considerar además de las alteraciones genéticas, los factores epigenéticos involucrados en la evolución de este tipo de tumor. Recomendamos continuar con este tipo de estudio ya que los mismos podrían ayudar a identificar probables sitios de genes involucrados en esta patología que ayudarían a aclarar mas la patogénesis de esta enfermedad.

### AGRADECIMIENTO

Esta investigación fue financiada a través del proyecto CONDESLUZ N° 1106-96

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MITELMAN E.: Catalog of chromosome aberrations in cancer. 1991; 4<sup>th</sup> ed. Wiley-Liss, New York.
2. MITELMAN F.: Catalog of chromosomal aberrations in cancer. 1994; 5<sup>th</sup> ed. Wiley-Liss, New York.
3. PANDIS N., IDVALL I., BARDI G., JIN V., GURUNOVA., MERTENS F., OLSSON H., INGRAR C., MITELMAN F., HEIM S.: Correlation between karyotype pattern and clinicopathologic features in 125 breast cancer cases. *Int J Cancer* 1996; 66: 191-196.
4. ADEYNKA A., MERTENS F., IDVALL I., BONDESON L., INGVAR C., HEIM S., MITELMAN F., PANDIS N.: Cytogenetic finding in invasive breast carcinomas with prognostically favourable histology: A less complex karyotype pattern?. *Int J Cancer* 1998; 79(4):361-364.
5. ROJAS-ATENCIO A., ROLDAN-PARÍS L., PINEDA-DEL VILLAR L., HERRERA N., HERRERA A.: Importancia de las alteraciones cromosómicas en la Leucemia mieloide crónica. *Invest Clin* 1993; 34:75-83.
6. TEIXEIRA M.R., PANDIS N., BARDI G., ANDERSEN JA., MANDAHL N., MITELMAN F., HEIM S.: Cytogenetic analysis of multifocal breast carcinomas. detection of karyotypically unrelated clones as well as clonal similarities between tumour foci. *Br J Cancer* 1994; 70(5):922-927.
7. PANDIS N., HEIM S., BARDI G., LIMON J., MANDAHL N., MITELMAN F.: Improved technique for short-term culture and cytogenetic analysis of human breast cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 1992; 5(1):14-20
8. F. MITELMAN.: An International System for human cytogenetic nomenclature. 1995; S. Karger, Basel. ISCN.

9. HAINSWORTH P.J., RAPHAEL K.L., STILLWELL R.G., BENNET R.C., GARSON O.M.: Cytogenetic features of twenty-six primary breast cancers. *Cancer Genet Cytogenet* 1991; 53(2): 205-218.
10. HOLLAND J., BAST R., MORTON D., FREI E., KUFEL D., WEICHSELBAUM R.: *Cancer Medicine*, 4<sup>th</sup> ed, Williams & Wilkins, 1997, 1:119-142.
11. GELEICK D., MULLER H., MATTER A., TORHORST J., REGENASS U.: Cytogenetics of breast cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 1990; 46(2):217-229.
12. PANDIS N., JIN Y., GORUNOVA L., PETERSON C., BARDI G., IDVALL I., JOHANSSON B., INGVAR CH., MANDAHL N., MITELMAN F., HEIM S.: Chromosome analysis of 97 primary breast carcinomas: Identification of eight karyotypic subgroups. *Genes Chromosomes Cancer* 1995; 12:173-185.
13. PANDIS N., TEIXEIRA M., GERDES A., LIMON J., BARDI G., ANDERSEN J., IDVALL I., MANDAHL N., MITELMAN F., HEIM S.: Chromosome abnormalities in bilateral breast carcinomas. *Cancer* 1995; 72(2): 250-257.
14. MCMANUS DT., PATTERSON AH., MAXWELL P., ANDERSON NH., CAUGHLEY LM., TONER PG.: Interphase cytogenetics of chromosomes 11 and 17 in fine needle aspirates of breast cancer. *Human Pathol* 1999; 30(2): 137-144.
15. ICHIKAWA D., HASHIMOTO N., HOSHIMA M., YAMAGUCHI T., SAWAI K., TAKAHASHI T., ABE T., INAZAWA J.: Analysis of numerical aberrations of specific chromosomes by fluorescent *in situ* hybridization as a diagnostic tool in breast cancer. *Cancer* 1996; 77(10):2064-2069.
16. TAYLOR KM.: Origin of small metacentric chromosome: familial and cytogenetic evidence. *Clin Genet* 1975; 8:364-369.
17. TRENT J.M., CRICKARD K., GIBAS Z.: Methodological advances in the cytogenetic analysis of human solid tumors. *Cancer Genet Cytogenet* 1986; 19:57-66
18. BARCH M., KNUTSEN T., SPURBECK J.: *The AGT cytogenetics laboratory manual*. 3<sup>rd</sup> ed. Lippincott Raven Publishers 1997; 393-394.
19. BERNARDINO J., GERBAULT S., ZAFRANI B., DERIKE Y., DUTRILLAUX B.: Homogeneously staining regions in 223 breast carcinomas: cytogenetic and clinicopathological correlations. *Br J Cancer* 1998; 78:9 1214-1218.
20. JOHANSON B., MERTENS F., MINTELMAN F.: Geographic heterogeneity of neoplasia associated chromosome aberrations. *Genes Chrom Cancer* 1991; 3:1-7.
21. PANDIS N., HEIM S., BARDI G., IDVALL I., MANDAHL N., MITELMAN F.: Chromosome analysis of 20 breast carcinomas: cytogenetic multiclonality

- and karyotypic-pathologic correlations. *Genes Chromosomes Cancer* 1993; 6(1):51-57.
22. HEIM S., TEIXEIRA MR., DIETRICH CU., PANDIS N.: Cytogenetic polyclonality in tumors of the breast. *Cancer Genet Cytogenet* 1997; 95:16-19.
23. FEARON E.R., VOGELSTEIN B.: A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990; 61:759-767.
24. WALKER G.J., PALMER J.M., WALTERS M.K., HAYWARD N.K.: A genetic model of melanoma tumorigenesis based on allelic losses. *Genes Chromosomes Cancer* 1995; 12:134-141.
25. DALBAGNI G., PRESTI J., REUTER V., FAIR WR., CORDON-CARDO C.: Genetic alteration in bladder cancer. *Lancet* 1993; 2:469-471.
26. BIECHE I., CHAMPEME MH., LIDEREAU RA.: Tumor suppressor gene on chromosome 1p32-pter controls the amplification of MYC family genes in breast cancer. *Cancer Res* 1994; 54:4274-4276.
27. BIECHE I., LIDEREAU R.: Genetic alterations in breast cancer. *Genes Chromosome Cancer* 1995; 14:227-255.