

J. Vázquez^a
F. Vizoso^b
L.O. González^c
P. Vérez^d
M. Mulero^d
M.L. Lamelas^a
A.M. Merino^e

Servicios de ^aGinecología, ^bCirugía General, ^cAnatomía Patológica y ^dMedicina Interna. Hospital de Jove. Gijón. Asturias.
^eServicio de Anatomía Patológica. Hospital de Cabueñes de Gijón. Asturias.

Correspondencia:

Dr. J. Vázquez Rojo.
Servicio de Ginecología. Hospital de Jove.
Avda. Eduardo Castro, s/n. 33290 Gijón. Asturias.
Correo electrónico: jvrojo@eresmas.com

Fecha de recepción: 26/9/01

Aceptado para su publicación: 29/1/02

Expresión y significación clínica del pepsinógeno C y la collagenasa-3 en el carcinoma de endometrio

87

Expression and clinical significance of pepsinogen C and collagenase-3 in endometrial carcinoma

J. Vázquez, F. Vizoso, L. Ovidio González, C. Vérez, M. Mulero, M.L. Lamelas, A.M. Merino. *Expresión y significación clínica del pepsinógeno C y la collagenasa-3 en el carcinoma de endometrio. Prog Obstet Ginecol 2002;45(3):87-95.*

RESUMEN

Objetivo: Analizar la expresión tumoral del pepsinógeno C y de la collagenasa-3 en el adenocarcinoma de endometrio y la relación con las características de las pacientes y de sus tumores.

Sujetos y métodos: Analizamos retrospectivamente mediante análisis inmunohistoquímico, utilizando anticuerpos monoclonales, 58 pacientes diagnosticadas y tratadas de adenocarcinoma de endometrio.

Resultados: Se detectó pepsinógeno C en 21 tumores (36%) y collagenasa-3 en 30 (51%). La expresión de estas proteínas se asoció significativamente con la profundidad de la invasión miometrial, de forma que a mayor invasión del miometrio, menor expresión de pepsinógeno C y mayor de collagenasa-3 ($p < 0,005$ y $p < 0,02$, respectivamente). El análisis combinado de ambas enzimas proteolíticas predijo significativamente el grado de invasión miometrial ($p < 0,001$).

Conclusión: Un porcentaje significativo de adenocarcinomas de endometrio expresan pepsinógeno C y collagenasa-3, lo cual refleja un comportamiento biológico diferente, y pueden ser útiles en la predicción preoperatoria de la invasión miometrial en el cáncer de endometrio.

PALABRAS CLAVE

Pepsinógeno C. Collagenasa-3. Invasión miometrial. Cáncer de endometrio. Receptores de andrógenos.

ABSTRACT

Objective: To analyze pepsinogen C and collagenase-3 expression in endometrial adenocarcinoma and their relationship with patient and tumoral characteristics.

Subjects and methods: We retrospectively analyzed 58 patients with endometrial adenocarcinomas through immunohistochemical assays using monoclonal antibodies.

88 Results: Pepsinogen C expression was found in 21 tumors (36%) and collagenase-3 expression was found in 30 (51%). Expression of these proteins was significantly associated with myometrial invasion. The deeper the myometrial invasion, the lesser the pepsinogen C expression and the greater the collagenase-3 expression ($p < 0.005$ and $p < 0.02$, respectively). The combined assays of pepsinogen C and collagenase-3 significantly predicted the depth of myometrial invasion ($p < 0.001$).

Conclusions: Pepsinogen C and collagenase-3 are expressed in a significant percentage of endometrial adenocarcinomas. These proteolytic enzymes behave differently in this type of tumor and might be useful in the preoperative diagnosis of myometrial invasion.

KEY WORDS

Pepsinogen C. Collagenase-3. Myometrial invasion. Endometrial cancer. Androgen receptor.

INTRODUCCIÓN

El adenocarcinoma de endometrio supone alrededor del 90% de los tumores de cuerpo uterino, siendo el resto sarcomas o tumores mixtos¹. Además, con un 5% del total de tumores femeninos, representa el cuarto tumor en frecuencia en las mujeres europeas, detrás del cáncer de mama, colon y pulmón. La mayoría de las pacientes se diagnostican en un estadio inicial de la enfermedad (80%) y presentan una buena supervivencia a los 5 años (83%), aunque se reduce notablemente si hay enfermedad extrauterina. Los indicadores pronósticos más ampliamente aceptados para esta neoplasia, además del estadio tumoral, son el grado de diferenciación histológica y la profundidad de invasión miometrial. Sin embargo, a pesar de los avances diagnósticos y terapéuticos conseguidos, el pronóstico de numerosas pacientes es aún incierto, ya que éste no sólo depende de los factores pronósticos mencionados, sino también del comportamiento biológico del tumor. Por esa razón, actualmente, se están investigando numerosos parámetros biológicos que pueden complementar a los

factores pronósticos clásicos, como el contenido de ADN, el oncogén *neu*, la proteína p53, el factor de crecimiento epidérmico y su receptor o la presencia de receptores hormonales. Pero, aun así, todavía son necesarios otros marcadores biológicos que nos permitan conocer nuevos aspectos moleculares del cáncer ginecológico, y que ayuden al clínico en la toma de decisiones terapéuticas de una forma más individualizada.

El pepsinógeno C, precursor inactivo de la pepsina C, es una aspartil-proteinasa producida principalmente por la mucosa gástrica e implicada en la degradación de proteínas en el estómago². También se ha demostrado la expresión de pepsinógeno C en carcinomas de origen mamario³ y, más recientemente, en otros carcinomas de diferente origen, incluido el de ovario y endometrio⁴. Por otra parte, la expresión tumoral de esta enzima se ha asociado con un pronóstico favorable en el cáncer de mama^{5,6}. Además, se ha demostrado que el pepsinógeno C es una de las pocas proteínas que son inducidas por andrógenos en células cancerosas de mama⁷.

La collagenasa-3 es una enzima proteolítica perteneciente a la familia de las metaloproteinasas que se ha identificado y caracterizado a partir de las células tumorales del cáncer de mama⁸. Diferentes estudios han revelado que esta proteasa desempeña una importante función en diferentes procesos fisiológicos de remodelación tisular como el desarrollo óseo fetal⁹, así como en procesos reproductivos como la ovulación y la involución uterina¹⁰. Además, también se ha implicado en enfermedades benignas, como la artritis reumatoide⁹, la cicatrización de heridas¹¹ y los aneurismas de aorta¹². Por otra parte, la collagenasa-3 podría desempeñar un papel importante en la fisiopatología tumoral por su capacidad para degradar diferentes elementos de la matriz extracelular, facilitando, de esa forma, la invasión tumoral y las metástasis, que son aspectos clave en la historia natural del cáncer. Así, se ha demostrado que la collagenasa-3 tiene capacidad de degradar diferentes colágenos fibrilares, preferentemente el colágeno tipo II, la fibronectina, la tenascina y la fibrilina¹³⁻¹⁵. Además de en el cáncer de mama, se ha encontrado la expresión de collagenasa-3 en los carcinomas escamosos de piel¹⁶, de laringe¹⁷ y vulvar¹⁸, condrosarcomas¹⁹, melanomas²⁰ y de vejiga²¹.

El conocimiento acerca de la expresión de estas proteínas de diferente significado biológico, la collagenasa-3 y el pepsinógeno C, en los carcinomas de endometrio

es muy escasa. Por ello, y teniendo en cuenta el ambiente hormonal en el que se desarrolla este tipo de tumor ginecológico, los objetivos de este estudio han sido investigar la expresión tumoral del pepsinógeno C y la colagenasa-3 en los carcinomas de endometrio, así como analizar la posible relación de dicha expresión tumoral con los diversos factores clínicos de las pacientes y las características de sus tumores.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio fue realizado sobre un total de 58 pacientes con adenocarcinoma de endometrio, que fueron diagnosticadas y tratadas en el Hospital de Jove de Gijón y en el Hospital Central de Asturias de Oviedo entre los años 1985 y 1996. La edad media de las pacientes fue de 65 años (intervalo, 30-93) y ninguna había recibido tratamiento previo a la obtención de las muestras tisulares. Cuarenta y tres pacientes (73%) se trataron inicialmente con cirugía, aplicándose radioterapia complementaria en 19 (32%) y quimioterapia en 3 (5%). Diez (17%) pacientes recibieron radioterapia como único tratamiento o preoperatoriamente, dos (3%) rechazaron cualquier actitud terapéutica y en 3 (5%) pacientes desconocimos los datos clínicos. La gradación histológica de los tumores se estableció siguiendo los criterios recomendados por la FIGO²². Las características de las pacientes y de sus tumores están representadas en la tabla 1. El seguimiento de la enfermedad se pudo realizar en 53 pacientes, de las que 4 (7%) desarrollaron recurrencia tumoral, 6 pacientes fallecieron a causa de la progresión tumoral (11%) y 5 fallecieron por otras causas no relacionadas con la enfermedad (9%). El tiempo medio de seguimiento fue de 27 meses (intervalo, 1-97) para todas las pacientes y de 29 meses para las supervivientes.

Purificación de la colagenasa-3 y del pepsinógeno C y obtención de anticuerpos

La expresión tumoral de ambas proteínas se evaluó mediante un análisis inmunohistoquímico utilizando anticuerpos monoclonales. La colagenasa-3 se produjo a partir de bacterias recombinantes, tal como describen Freije et al⁸, y los anticuerpos monoclonales contra la proteína fueron obtenidos por Fuji-Chemical Ltd. (Japón).

Para la obtención de anticuerpos monoclonales contra el pepsinógeno C se purificó la proteína a partir de mucosa gástrica humana obtenida de autopsias de pacientes sin enfermedades gástricas, siguiendo el método de Foltmann y Jensen²³. La naturaleza y la calidad del antígeno purificado se confirmó mediante la determinación de su secuencia aminoterminal por degradación automática de Edman. Los anticuerpos específicos para el pepsinógeno C se obtuvieron siguiendo los protocolos establecidos en la Facultad de Medicina de Oviedo.

Preparación de las muestras y tinción inmunohistoquímica

Todas las muestras tisulares se obtuvieron en el momento del diagnóstico mediante legrado uterino o de la pieza uterina tras el tratamiento quirúrgico, y no habiendo recibido las pacientes ningún otro tratamiento previo. Todas esas muestras tisulares se procesaron e incluyeron en parafina siguiendo los protocolos habituales de los servicios de anatomía patológica.

La tinción inmunohistoquímica se realizó sobre cortes de 6 mm de los bloques de parafina, y siguiendo el método biotina-streptavidina mediante el sistema Supersensitive (Biogenex, San Ramón, EE.UU.). La dilución de los anticuerpos fue de 1:200 para la colagenasa-3 y de 1:50 para el pepsinógeno C. La presencia de las enzimas se reveló con Fast Red. Finalmente, la preparación fueron valoradas por dos médicos anatomopatólogos de forma independiente y sin conocer los datos clínicos de las pacientes. La tinción, cuando estuvo presente, fue uniforme y superó el 20% de las células tumorales. Por ello, los casos se clasificaron como positivos y negativos.

Además, también determinamos el estado de los receptores de andrógenos (RA) en 45 tumores mediante la misma técnica inmunohistoquímica y utilizando un anticuerpo monoclonal comercial (Biogenex, San Ramón, EE.UU.).

Análisis estadístico

El análisis de la posible relación entre la tinción inmunohistoquímica del pepsinógeno C y la colagenasa-3 en los tumores y los factores clinicopatológicos, así como con el estado de los RA, se examinó

Tabla 1 Expresión del pepsinógeno C y la colagenasa-3 y su relación con las características de las pacientes y de sus tumores

	<i>n</i> (%)	Pepsinógeno C		<i>p</i>	Colagenasa-3		<i>p</i>
		Negativos <i>n</i> (%)	Positivos <i>n</i> (%)		Negativos <i>n</i> (%)	Positivos <i>n</i> (%)	
Total casos	58	37 (64)	21 (36)		28 (49)	30 (51)	
Edad				NS			NS
< 60 años	15 (25)	8 (54)	7 (46)		8 (54)	7 (46)	
≥ 60 años	40 (69)	28 (70)	12 (30)		19 (48)	21 (52)	
Desconocida	3 (5)						
Menopausia				NS			NS
No	5 (9)	1 (20)	4 (80)		3 (60)	2 (40)	
Sí	50 (86)	35 (70)	15 (30)		24 (48)	26 (52)	
Desconocida	3 (5)						
Estadio				NS			NS
I	44 (76)	28 (64)	16 (36)		23 (53)	21 (47)	
II	4 (7)	2 (50)	2 (50)		0	4 (100)	
III	4 (7)	3 (75)	1 (25)		2 (50)	2 (50)	
IV	3 (5)	3 (100)	0		2 (66)	1 (33)	
Desconocido	3 (5)						
Tipo histológico				NS			NS
Endometriode	47 (81)	29 (62)	18 (38)		24 (52)	23 (48)	
Adenoacantoma	1 (2)	1	0		0	1 (100)	
Adenoescamoso	2 (3)	1 (50)	1 (50)		0	2 (100)	
Células claras	4 (7)	3 (75)	1 (25)		2 (50)	2 (50)	
Papilar seroso	4 (7)	3 (75)	1 (25)		2 (50)	2 (50)	
Grado histológico				NS			NS
I	26 (44)	15 (58)	11 (42)		14 (54)	12 (46)	
II	24 (41)	15 (63)	9 (37)		9 (38)	15 (62)	
III	8 (13)	7 (88)	1 (12)		5 (63)	3 (37)	
Infiltración miometrial				< 0,005			0,018
No	9 (15)	1 (12)	8 (88)		8 (88)	1 (11)	
< 50%	20 (34)	14 (70)	6 (30)		10 (50)	10 (50)	
≥ 50%	14 (24)	12 (85)	2 (14)		4 (28)	10 (72)	
Desconocido	15 (26)						
Receptores de andrógenos				NS			NS
Negativos	21 (47)	15 (71)	6 (29)		10 (49)	11 (50)	
Positivos	24 (53)	13 (54)	11 (46)		12 (50)	12 (50)	
No determinados	13						

NS: no significativo.

con el test de la χ^2 , con corrección de Yates cuando fue necesario. El nivel de significación establecido fue del 95% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Expresión del pepsinógeno C

El análisis inmunohistoquímico para el pepsinógeno C reveló una tinción positiva para la proteína

en el citoplasma de las células tumorales en un total de 21 carcinomas de endometrio (36%). En la figura 1 se incluye un ejemplo representativo de tumor positivo para esta proteína. No existieron diferencias significativas entre la expresión de la enzima y el tipo o grado histológico de los tumores, así como tampoco con la edad de las pacientes ni con el estadio de la enfermedad. Sin embargo, la expresión del pepsinógeno C demostró una asociación significativa con el nivel de infiltración miometrial por el tumor ($p < 0,005$). Así, 26 de 27 tumores que

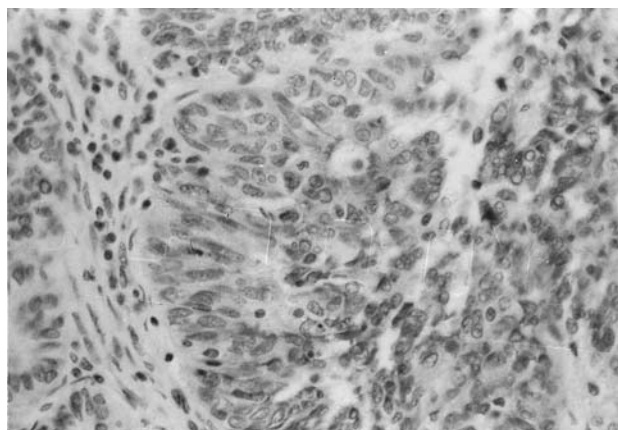


Figura 1. Tinción inmunohistoquímica positiva para el pepsinógeno C en un carcinoma de endometrio (x400).

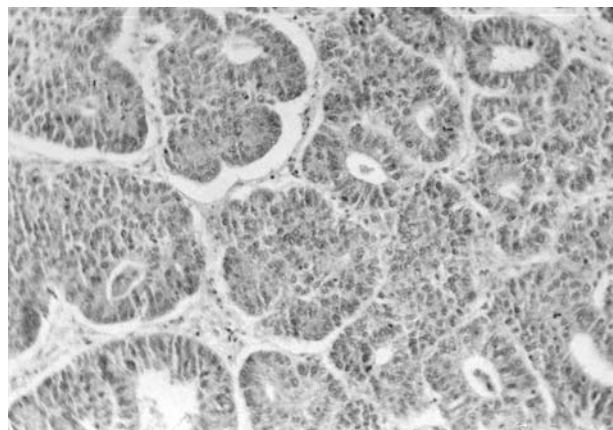


Figura 2. Tinción inmunohistoquímica positiva para la collagenasa-3 en un carcinoma de endometrio (x200).

no expresaban pepsinógeno C (96%) infiltraban el miometrio en una profundidad variable, frente a 8 de los 16 (50%) que eran positivos para la proteína ($p < 0,005$) (tabla 1). Sin embargo, los tumores histológicamente más agresivos (serosos y de células claras) no presentaron una expresión significativamente diferente de la de los otros tipos histológicos.

Por otra parte, de las 53 pacientes en las que se obtuvo información sobre el seguimiento clínico, existió una recurrencia tumoral (5%) en las 19 pacientes cuyos tumores eran positivos para el pepsinógeno C, frente a 3 en las 34 pacientes con tumores negativos para la enzima (8%). Respecto de los fallecimientos a causa de la enfermedad, ocurrió una muerte (5%) en el grupo con tumores pepsinógeno C positivos por 5 (14%) en las pacientes que no expresaban esta proteína. Esas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Expresión de collagenasa-3

El análisis inmunohistoquímico de los carcinomas de endometrio demostró una tinción positiva para la collagenasa-3 en un total de 30 tumores (51%). En la figura 2 se recoge un ejemplo representativo de tumor positivo para la metaloproteasa. En 28 tumores (48%) la tinción inmunohistoquímica se localizó en el citoplasma de al menos el 20% de las células tumorales, y en sólo 2 tumores (3%) pudimos observar positividad únicamente en el estroma. Al igual

que el pepsinógeno C, de todos los parámetros clinicopatológicos considerados, la expresión de collagenasa-3 tan sólo presentó una asociación significativa con el nivel de invasión miometrial. De tal forma que 20 tumores, de 21 que expresaban la collagenasa-3 (95%), invadían en alguna medida la pared miometrial, mientras sólo lo hacían 14 de los 22 (63%) que eran negativos para la enzima ($p = 0,018$) (tabla 1). Igualmente, no hubo diferencias significativas en la expresión de collagenasa-3 en función del tipo histológico del tumor endometrial.

Tanto en el grupo de pacientes con seguimiento y cuyos tumores expresaron la collagenasa-3 ($n = 27$), como en el que no expresaban dicha enzima ($n = 26$), existieron 2 recurrencias tumorales (7%). Asimismo, en el grupo de pacientes con tumores positivos para la collagenasa-3 fallecieron 4 (15%) a causa de la enfermedad, frente a 2 (7%) en el grupo de pacientes cuyos tumores eran negativos para la enzima. Esas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Relación entre la expresión tumoral del pepsinógeno C y la collagenasa-3

Del total de tumores analizados, 8 carcinomas fueron positivos para el pepsinógeno C y la collagenasa-3 (13%). De todos los parámetros clinicopatológicos analizados, únicamente observamos una asociación significativa de la combinación de los valores

Tabla 2 Expresión del pepsinógeno C y la colagenasa-3 en función de la infiltración miometrial

Combinación pepsinógeno C- colagenasa-3	N (43)	Infiltración miometrial			p
		Nula	< 50%	≥ 50%	
Pepsinógeno C (+)					
colagenasa-3 (-)	8	7	1	0	< 0,001
P (-) C (+)	13	0	5	8	
P (-) C (-)	14	1	9	4	
P (+) C (+)	8	1	5	2	

de expresión tumoral del pepsinógeno C y la colagenasa-3 con la infiltración miometrial. Así, la totalidad de los 13 tumores positivos para la colagenasa-3 y con negatividad para el pepsinógeno C invadían la pared miometrial en alguna medida; es más, 8 de ellos (62%) sobrepasaban la mitad del miometrio. Sin embargo, sólo infiltraba un tumor de los 8 que eran negativos para la colagenasa-3 y positivos para el pepsinógeno C y que, además, no sobrepasó la mitad del grosor miometrial ($p < 0,001$) (tabla 2).

Relación entre la expresión tumoral del pepsinógeno C y colagenasa-3 con el estado de receptores de andrógenos

En un total de 24 (53,3%) tumores se detectaron RA mediante análisis inmunohistoquímico y no observamos ninguna relación significativa entre el estado de RA y la expresión del pepsinógeno C y la colagenasa-3 ($p = 0,37$ y $p = 0,80$, respectivamente). Un 54% de los tumores pepsinógeno C negativos fueron positivos para los RA y un 29% de los casos pepsinógeno C positivos fueron negativos para los RA (tabla 1).

DISCUSIÓN

Este estudio demuestra la expresión del pepsinógeno C y/o la colagenasa-3 por un porcentaje significativo de carcinomas de endometrio. Nuestros resultados también demuestran que la expresión tumoral del pepsinógeno C está inversamente relacionada con la profundidad de invasión miometrial, mientras que

la expresión de la colagenasa-3 está asociada positivamente con ella.

Los resultados del presente estudio confirman y extienden nuestra observación previa acerca de que un porcentaje significativo de adenocarcinomas endometriales expresan el pepsinógeno C⁴. Por otra parte, el hallazgo de que la expresión del pepsinógeno C esté aparentemente asociada con lesiones tumorales de pronóstico más favorable está en la línea de los resultados obtenidos en el cáncer de mama, donde se asocia con una supervivencia más prolongada de las pacientes^{5,6}. Todos esos datos están, de algún modo, en contraposición con el papel asignado a las enzimas proteolíticas en la patología tumoral, donde generalmente se asocian con un pronóstico adverso debido a su potencial en la degradación de la matriz extracelular, facilitando así la invasión tumoral y las metástasis²⁴. Una explicación posible de que el pepsinógeno C no esté asociado a un pronóstico desfavorable es que es secretado como un precursor inactivo que requiere su activación a pH ácido para ejercer su acción proteolítica. Así pues, dado que esas condiciones ácidas son difícilmente alcanzables en el medio extracelular, es muy improbable que el pepsinógeno C ejerza una función proteolítica en el cáncer humano. Sin embargo, la expresión tumoral del pepsinógeno C puede resultar indicativa de una vía específica de respuesta hormonal. Así, se ha demostrado que esta proteasa es una de las pocas proteínas cuya producción es estimulada por los andrógenos en células de cáncer de mama en cultivo⁷. Además, se ha demostrado que la región promotora del gen del pepsinógeno C es similar a la del antígeno prostático específico (PSA) y a la de la kaliceína glandular⁷, dos serinproteasas que presentan una gran expresión en la próstata y que responden específicamente al estímulo androgénico^{25,26}. Todos estos datos, junto con la presencia de pepsinógeno C en la próstata²⁷, sugieren que los andrógenos podrían ser las hormonas esteroideas más importantes implicadas en su producción, tanto en condiciones normales como patológicas.

Aunque el mecanismo exacto responsable de la producción de pepsinógeno C en los carcinomas de endometrio es desconocido en la actualidad, los andrógenos podrían ser las hormonas involucradas en su producción. De hecho, se ha demostrado la presencia de receptores de andrógenos en el 65-75% de los adenocarcinomas de endometrio²⁸ y, lo que es

más interesante, se ha comprobado que los andrógenos pueden inhibir la proliferación de las células malignas de origen endometrial²⁹. Sin embargo, en nuestro estudio no detectamos ninguna relación entre el estado de RA y la expresión de pepsinógeno C. Este hallazgo podría estar en relación con el hecho de que los RA hubieran perdido su capacidad funcional, aunque sean estructuralmente detectables, como consecuencia de los procesos asociados a la transformación maligna del endometrio. En este sentido Zhu et al³⁰ han demostrado unas variantes de RA con menor capacidad de unión a los andrógenos. Así, la determinación de pepsinógeno C podría ser útil para valorar la sensibilidad androgénica del carcinoma endometrial. Por otra parte, también hay que tener en consideración la existencia de otros mecanismos de regulación hormonal de la producción de pepsinógeno C en los que estarían implicados otros esteroides como los glucocorticoides y la progesterona⁷.

En este trabajo también hemos podido comprobar la expresión de la collagenasa-3 en un porcentaje significativo de carcinomas de endometrio. No es sorprendente este hallazgo, ya que se ha podido confirmar la importancia de diferentes MMP en procesos fisiológicos del aparato reproductor femenino. Así, la expresión endometrial de las metaloproteasas de la matriz extracelular sufren variaciones cíclicas y parecen ser las proteasas clave en el inicio de la menstruación^{31,32}. También se ha podido demostrar que los valores de ARNm de collagenasa-3 en el útero de rata gestante o posparto se incrementan coincidiendo con la caída de los valores de progesterona³². Por tanto, aunque no se conoce en la actualidad el mecanismo exacto responsable de la producción de collagenasa-3, podemos especular que la expresión de la enzima por el carcinoma de endometrio puede ser también consecuencia de alteraciones hormonales presumiblemente asociadas al desarrollo tumoral.

En el presente estudio, la expresión de collagenasa-3 se relacionó con uno de los parámetros más importantes implicados en la agresividad tumoral, como es el grado de invasión miometrial. De forma similar, se ha señalado que la expresión de collagenasa-3 está asociada con una mayor extensión tumoral en los carcinomas escamosos de laringe¹⁷ y con un pronóstico desfavorable en las pacientes con cáncer de mama³⁴. Todo ello puede estar relaciona-

do con la capacidad degradativa de la collagenasa-3 sobre los componentes de la matriz extracelular, favoreciendo la invasión tumoral y las metástasis, y teniendo en cuenta, además, que a diferencia del pepsinógeno C, puede desempeñar su acción degradativa a pH neutro, más propio del medio extracelular. No obstante, se necesitan investigaciones futuras sobre la expresión de la collagenasa-3 en el cáncer endometrial. Así, por ejemplo, aunque en el presente estudio detectamos la expresión de la proteasa en el citoplasma de la célula tumoral, ello no significa que éste sea el origen celular de producción. Con respecto a esto, Uría et al³⁵ han señalado que la síntesis de collagenasa-3 tiene lugar en los fibroblastos peritumorales del cáncer de mama para, posteriormente, unirse a un receptor de membrana o interiorizarse en la célula tumoral. En cambio, en otros tumores humanos se ha confirmado la producción de la collagenasa-3 por las propias células tumorales, como en el cáncer escamoso de piel³⁶ o los condrosarcomas¹⁹.

En definitiva, el presente estudio demuestra la expresión tumoral de pepsinógeno C y collagenasa-3 por un porcentaje significativo de carcinomas de endometrio, y que la producción de estas proteínas parece estar en relación con diferentes comportamientos biológicos de esos tumores. Así, la expresión del pepsinógeno C parece asociarse a un comportamiento tumoral menos agresivo y, por el contrario, la collagenasa-3 con un fenotipo más agresivo. Por tanto, el análisis de la expresión tumoral de pepsinógeno C en combinación con la collagenasa-3 podría aportar información clínica útil, incluso previamente a la intervención quirúrgica, mediante el análisis de las muestras endometriales obtenidas en el legrado uterino o en la biopsia ambulatoria. Así pues, esta información, y en combinación con la imagen radiológica, podría permitirnos individualizar la extensión del tratamiento quirúrgico basándose en las posibilidades de infiltración miometrial por el tumor, ya que todos los tumores positivos para la collagenasa-3 y negativos para el pepsinógeno C infiltraban la pared miometrial. Sin embargo, también consideramos que serán necesarios futuros estudios con el objetivo de confirmar nuestros resultados preliminares, así como para precisar mejor el papel de ambas proteasas en la biología molecular del adenocarcinoma de endometrio.

BIBLIOGRAFÍA

- Platz CE, Benda JA. Female genital tract cancer. *Cancer* 1995;75:270-94.
- Samloff IM. Peptic ulcer: the many proteinases of aggression. *Gastroenterology* 1989;96:586-95.
- Díez-Itza I, Merino AM, Tolivia J, Vizoso F, Sánchez LM, López-Otín C. Expression of pepsinogen C in human breast tumors and correlation with clinicopathologic parameters. *Br J Cancer* 1993;68:637-40.
- Merino AM, Vázquez J, Rodríguez JC, Fernández R, Quintela I, González LO, et al. Pepsinogen C expression in tumors of extragastric origin. *Int J Biol Markers* 2000;15:165-70.
- Vizoso F, Sánchez LM, Díez-Itza I, Merino AM, López-Otín C. Pepsinogen C is a new prognostic marker in primary breast cancer. *J Clin Oncol* 1995;13:54-61.
- Scorilas A, Diamandis EP, Levesque MA, Papanastasiou Diamandi A, Khosravi MJ, Giai M, et al. Immunoenzymatically determined pepsinogen C concentration in breast cytosols: an independent favourable prognosis factor in node-positive patients. *Clin Cancer Res* 1999;5:1778-85.
- Balbín M, López-Otín C. Hormonal regulation of the human pepsinogen C gene in breast cancer cells. *J Biol Chem* 1996;271:15175-81.
- Freije JMP, Díez-Itza I, Balbín M, Sánchez LM, Blasco R, Tolivia J, et al. Molecular cloning and expression of collagenase-3, a novel human matrix metalloproteinase produced by breast carcinomas. *J Biol Chem* 1994;24:16766-73.
- Stahle-Bäckdahl M, Sandsted B, Bruce K, Lindhal A, Jimenez MG, Vega JA, et al. Collagenase-3 (MMP13) is expressed during human fetal ossification and re-expressed in postnatal bone remodeling and in rheumatoid arthritis. *Lab Invest* 1997;76:717-28.
- Balbín M, Fueyo A, López JM, Díez Itza I, Velasco G, López-Otín C. Expression of collagenase-3 in the rat ovary during the ovulatory process. *J Endocrinol* 1996;149:405-15.
- Lund LR, Romer J, Bugge TH, Nielsen BS, Frandsen TL, Deng JL, et al. Functional overlap between two classes of matrix degrading proteases in wound healing. *EMBO J* 1999;18:4645-56.
- Mao D, Lee JK, VanVickle SJ, Thompson RW. Expression of collagenase-3 (MMP-13) in human abdominal aortic aneurysm and vascular smooth muscle cells in culture. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;261:904-10.
- Mitchell PG, Magna HA, Reeves LM, Lopresti-Morrow IL, Yocum SA, Rosner PJ, et al. Cloning, expression and type II collagenolytic activity of matrix metalloproteinase-13 from human osteoarthritic cartilage. *J Clin Invest* 1996;97:761-8.
- Knäuper V, López-Otín C, Smith B, Knight G, Murphy G. Biochemical characterization of human collagenase-3. *J Biol Chem* 1996;271:1544-50.
- Ashworth JL, Murphy G, Rock MJ, Sherratt MJ, Shapiro SD, Shuttleworth CA, et al. Fibrillin degradation by matrix metalloproteinases implications for connective tissue remodeling. *Biochem J* 1999;340:171-81.
- Airola K, Johansson N, Kariniemi AL, Kähäri VM, Saarialho-Kere UK. Human collagenase-3 is expressed in malignant squamous epithelium of the skin. *J Invest Dermatol* 1997;109:225-31.
- Cazorla M, Hernández L, Nadal A, Balbín M, López JM, Vizoso F, et al. Collagenase-3 overexpression is associated with advanced local extension in human squamous cell carcinomas of the larynx. *J Pathol* 1998;186:144-50.
- Johansson N, Vaalamo M, Grenman S, Hietanen S, Klemi P, Saarialho-Kere U, et al. Collagenase-3 (MMP-13) is expressed by tumor cells in invasive vulvar squamous cell carcinomas. *Am J Pathol* 1999;154:469-80.
- Uría JA, Balbín M, López Otín C, Álvarez J, Vizoso F, Takigawa M, et al. Collagenase-3 expression in chondrosarcoma cells and its regulation by basic fibroblast growth factor. *Am J Pathol* 1998;153:91-101.
- Airola K, Karonen T, Vaalamo M, Lehti K, Lohi J, Kariniemi AL, et al. Expression of collagenase-1 and -3 and their inhibitors TIMP-1 and -3 correlates with the level of invasion in malignant melanomas. *Br J Cancer* 1999;80:733-43.
- Liotta LA, Tryggvason K, Garbisa S, Hart I, Foltz CM. Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. *Nature* 1980;284:67-8.
- Creasman W, Odicino F, Maisonneuve P, Bendet J, Shepherd J, Sideri M, et al. Carcinoma of the corpus uteri. *J Epidemiol Biostat* 1998;1:35-61.
- Foltmann B, Jensen AL. Human Progastricsin. Analysis of intermediates during activation into gastricsin and determination of the amino acid sequence of the propeptide. *Eur J Biochem* 1982;128:63-70.
- Boström PJ, Ravanti L, Reunanen N, Aaltonen V, Söderström K, Kähäri V, et al. Expression of collagenase-3 (matrix metalloproteinase-13) in transitional-cell carcinoma of the urinary bladder. *Int J Cancer* 2000;88:417-23.
- Young CYF, Montgomery BT, Andrews PE, Qiu S, Bilhartz DL, Thindall DJ. Hormonal regulation of prostate-specific antigen messenger RNA in human prostatic adenocarcinoma cell line LNCaP. *Cancer Res* 1991;51:3748-52.
- Murtha P, Thindall DJ, Young CYF. Androgen induction of a human prostate-specific kallikrein, hKLK2: characterization of an androgen response element in the 5' promoter region of the gene. *Biochemistry* 1993;32:6459-64.
- Szecs PB, Halgreen H, Wong RNS, Kjaer T, Tang J. Cellular origin, complementary deoxyribonucleic acid and N-terminal amino acid sequences of human seminal progastricsin. *Biol Reprod* 1995;53:227-33.

28. Prodi G, Nicoletti G, De Giovanni C, Galli MC, Grilli S, Nanni P, et al. Multiple steroid hormone receptors in normal and abnormal human endometrium. *J Cancer Res Clin Oncol* 1980;98:173-83.
29. Hackenberg R, Schulz KD. Androgen receptor mediated growth control of breast cancer and endometrial cancer modulated by antiandrogen- and androgen-like steroids. *J Steroid Biochem Mol* 1996;56:113-17.
30. Zhu X, Daffada AAI, Chan CMW, Dowsett M. Identification of an exon 3 deletion splice variant androgen receptor mRNA in human breast cancer. *Int J Cancer* 1997;72:574-80.
31. Rodgers WH, Matrisian LM, Gludice LC, Dsupin B, Cannon P, Svitek C, et al. Patterns of matrix metalloproteinase expression in cycling endometrium imply differential functions and regulation by steroid hormones. *J Clin Invest* 1994;94:946-53.
32. Marbaix E, Kokorine I, Donnez J, Eeckhout Y, Courtoy PJ. Regulation and restricted expression of interstitial collagenase suggest a pivotal role in the initiation of menstruation. *Hum Reprod* 1996;11:134-43.
33. Wolf K, Sandner P, Kurtz A, Moll W. Messenger ribonucleic acid levels of collagenase (MMP-13) and matrilisin (MMP-7) in virgin, pregnant and postpartum uterus and cervix of rat. *Endocrinology* 1996;137:5429-34.
34. Vizoso F, Lamelas ML, Merino AM, González L, Rodríguez JC, Vázquez J, et al. Colagenasa-3: un nuevo marcador pronóstico de evolución desfavorable en el cáncer de mama. XXI Congreso Nacional de Cirugía. Madrid, 4-8 de noviembre de 1996.
35. Uría A, Stahle-Bäckdahl M, Seiki M, Fueyo A, López-Otín C. Regulation of collagenase-3 expression in human breast carcinomas is mediated by stromal-epithelial cell interactions. *Cancer Res* 1997;57:4882-8.
36. Johansson N, Airola K, Grénman R, Kariniemi AL, Saarialho-Kere U, Kähäri VM. Expression of collagenase-3 (matrix metalloproteinase-13) in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Am J Pathol* 1997;151:499-508.