Estudio inmunocitoquímico de Receptores de Estrógeno Fracción Alfa y de Progesterona en Pólipos Endometriales

Immunocytochemistry Study of Estrogen Receptor Alpha Fraction and Progesterone in Endometrial Polyps

Vasconcellos, A.; Villagrán, E.; Astudillo, M. & Cabezas, P.

VASCONCELLOS, A.; VILLAGRÁN, E.; ASTUDILLO, M. & CABEZAS, P. Estudio inmunocitoquímico de receptores de estrógeno fracción alfa y de progesterona en pólipos endometriales. *Int. J. Morphol.*, 23(2):123-127, 2005.

RESUMEN: Los pólipos endometriales son causa frecuente de metrorragia y, en algunos casos, pueden ser responsables de esterilidad. Su patogenia es poco conocida, dando origen a masas sésiles o pedunculadas que protruyen en la cavidad uterina y que histológicamente corresponden a endometrio proliferativo de estroma fibroso dentro del cual se encuentran glándulas de tipo estrógeno en proporción variable que pueden mostrar irregularidad y, ocasionalmente, hiperplasia.

La acción hormonal es fundamental para el desarrollo del endometrio tanto normal como patológico. Alteraciones cuantitativas a nivel de los receptores de estrógeno y progesterona podrían contribuir a la patogenia de los pólipos; siendo ellos el resultado de esta alteración. Su expresión podría corresponder a un aumento localizado de receptores de estrógeno (RE), de una disminución de receptores de progesterona (RP) o de ambos factores. Nuestro objetivo fue evaluar mediante método inmunocitoquímico, la presencia de receptores de estrógeno fracción alfa y receptores de progesterona, en 9 pacientes portadoras de pólipos endometriales.

La intensidad de la tinción fue evaluada como intensa, moderada, débil o negativa y comparada con muestras control de endometrio normal. Se observó un aumento de RE α en el estroma, en el epitelio glandular y en el endotelio de pequeños vasos que rodean a las glándulas endometriales. Los RP fueron negativos o no cuantificables, en el estroma y en el tejido glandular.

Concluimos que los pólipos endometriales presentan una alteración de la distribución de los receptores con un aumento localizado de los RE α en el estroma y en el epitelio glandular y una disminución de los RP, destacándose la presencia de RE α en las células perivasculares y en el endotelio de pequeños vasos.

PALABRAS CLAVE: Pólipo endometrial; Receptores de estrógeno; Receptores de progesterona.

INTRODUCCIÓN

Los pólipos endometriales constituyen un hallazgo frecuente en patología endometrial, causando metrorragia y ocasionalmente infertilidad (Wallach, 1972 y Ruiz Velasco *et al.*, 1997). Éstos son masas polipoideas que histológicamente corresponden a endometrio estrogénico con glándulas que pueden mostrar irregularidad epitelial y ocasionalmente hiperplasia, no presentando secreción. En algunas ocasiones, puede verse decidualización en pacientes que estén recibiendo progestágenos (Kurman *et al.*, 1994).

La acción hormonal determina el desarrollo del endometrio tanto normal como patológico (Lessey *et al.*, 1988; Levy *et al.*, 1980; Moutsatsou *et al.*, 1997), las hormonas se

unen a sus receptores específicos e inician la respuesta biológica. Los pólipos endometriales se originarían en la capa basal del endometrio y sus receptores serían similares a los de esta capa y sensibles por lo tanto, a la acción de los estrógenos y de la progesterona (Kurman *et al.*). Se ha postulado que los pólipos podrían ser el resultado de una alteración cuantitativa a nivel de los receptores de estrógeno (RE) y de progesterona (RP) (Maia *et al.*, 1998; Mittal *et al.*, 1996; Taylor *et al.*, 2003).

Se observó la presencia en el útero de receptores de estrógenos en sus dos isoformas alfa y beta (Arteaga *et al.*, 1998; Taylor *et al.*; Critchley *et al.*, 2001), llegándose a la conclusión que el principal receptor es el isoforma alfa.

Nuestro objetivo fue evaluar, mediante método inmunocitoquímico, a los receptores de estrógenos isoforma alfa y a los de progesterona, en 9 pacientes portadoras de pólipos endometriales con la finalidad de identificar posibles modificaciones en ellos que pudieran explicar su patogenia.

MATERIAL Y MÉTODO

Presentamos 9 pacientes con edades entre los 40 y 55 años, cuyo principal síntoma fue el de metrorragia abundante e intermitente y a las cuales se les diagnosticó pólipo endometrial. En 5 casos, mediante ecografía, se tomó biopsia, la que confirmó el diagnóstico presentando: 1 caso endometrio mixto y 8 casos endometrio estrogénico (dentro de ellos uno con características de pólipo adenomitoso).

Las inclusiones se hicieron en paraplast, de las cuales se obtuvieron cortes seriados de 5-7 μ m. Los análisis morfológicos se hicieron con Hematoxilina y Eosina. (Fig. 1 A y B).

Para la inmunocitoquímica las muestras fueron procesadas como describe Sternberger (1979), con el método del PAP, según técnica del segundo anticuerpo. En la serie para los receptores estrogénicos alfa se utilizó como 1^{er} anticuerpo (Ac) o específico, un monoclonal (Dako, M7047), como 2^oAc: (-)IgG ratón obtenido en conejo (Dako, Z0109) y el PAP fue PAP-ratón (Dako, P0850).

En la serie para los receptores de progesterona se utilizó como 1^{er} Ac, un policlonal (Dako, A0098), como 2^oAc: (-) IgG conejo obtenido en cerdo (Dako, Z0196) y PAP fue PAP-conejo (Dako, Z0113). El revelado se hizo con 3,3'-diaminobenzidina (Dako, S-3000 ó Sigma) y H₂O₂ por 1-5 minutos, para luego ser deshidratados y montados en Entellan (Merck).

Los resultados de la ICQ fueron estudiados en un microscopio Zeiss Axiolab con óptica ICS.

Según la intensidad de la tinción se usó la clasificación de: positividad fuerte o marcada (+++), moderada (++) , débil o leve (+) y negativa (-). La intensidad de reacción de las muestras fueron comparadas con controles negativos.

Se tomaron macrofotografías con un equipo fotográfico MC80 DX.

RESULTADOS

Los resultados para RE alfa fueron: 4 de las 9 muestras presentaron positividad de (2+), 3 de las positividad de (3+) y 2 positividad de (4+). La reacción positiva fue observada con mayor intensidad en el estroma del pólipo endometrial, siendo negativa en las glándulas. En 3 muestras las células del epitelio superficial evidenciaron reacción positiva en forma de gránulos dispuestos en la zona apical del epitelio cilíndrico secretor (Fig. 2 A y B). Se observó en 4 muestras, reacción positiva de (4+) para RE en células asociadas a vasos sanguíneos (Fig. 3 A y B).

Todas las muestras, excepto una, presentaron negatividad para RP. Esta muestra presentó reacción positiva tanto para RE como para RP y pertenecía a una paciente con terapia de reemplazo hormonal.

Fig. 1. Pólipo: A. Endometrio de estroma denso con glándulas de tipo estrogénico. 100X. B. Vasos prominentes. 400 X.

Fig. 2. A. Epitelio y estroma. HE. B y C. Inmunoreacción positiva para RE en epitelio en forma de gránulos de secreción.

DISCUSIÓN

Dentro de las patologías benignas que afectan el endometrio, los pólipos endometriales destacan por ser una de las causas frecuentes de metrorragia y, en algunos casos, pueden ser responsables de infertilidad (Wallach; Ruiz Velasco *et al.*). Los pólipos endometriales son masas sésiles o pedunculadas que protruyen en la cavidad uterina, su aspecto histológico corresponde a un endometrio proliferativo de estroma fibroso, dentro del cual se encuentran glándulas de tipo estrogénico en proporción variable, que pueden mostrar irregularidad y ocasionalmente hiperplasia. (Kurman *et al.*). En el 3,1% evidenciaron hiperplasia con atipia y sólo el 0,8% resultó ser canceroso, por lo tanto, sólo un 3,9% constituirían riesgo (Savelli *et al.*, 2003).

Poco se sabe de su patogenia salvo en casos puntuales, donde se relacionó un aumento en la frecuencia de aparición de pólipos endometriales en pacientes que utilizan Tamoxifeno para el tratamiento de cáncer mamario (Silva *et al.*, 1994).

Fig. 3. A y B. Inmunoreacción positiva para RE en el epitelio perivascular y en estroma de pólipo. 400X.

Las hormonas responsables de los cambios morfológicos del endometrio son los estrógenos y la progesterona, hormonas de tipo esteroide que se unen a sus receptores específicos y que luego, a través de estimulación genómica directa en sitios promotores, desencadenan la síntesis proteica que producirá los cambios en el tejido endometrial (Arteaga *et al.*).

El receptor de estrógeno (RE) posee dos isoformas producto de dos genes distintos, estas isoformas son denominadas RE α y RE β . En el útero se han descrito las dos isoformas, siendo la α el principal receptor proteico que media la clásica acción estrogénica en las glándulas y estroma endometrial.

La progesterona a nivel molecular inhibe la síntesis y reposición de los RE, de tal manera que puede actuar disminuyendo el número de receptores estrogénicos y haciendo que las células disminuyan su reactividad a los mismos.

Una de las hipótesis planteada para explicar la patogenia de los pólipos sería una alteración a nivel de los receptores de estrógeno (RE) y de progesterona (RP), ya sea por un aumento localizado de RE, de una disminución de los RP o la suma de ambos factores (Maia *et al.*; Mittal *et al.*; Taylor *et al.*).

La presencia de los receptores de estrógenos y progesterona en los pólipos respecto del endometrio normal no muestra diferencias significativas en las glándulas, pero si en las células estromales, donde se encontró una marcada reducción de PR y una moderada reducción de RE (Mittal *et al.*). Esto implicaría que los pólipos no corresponden a endometrio basal, ya que la distribución de receptores en ésta es diferente de la del pólipo, en éste último hay reducción de receptores en las células estromales, mientras que en la capa basal no los hay.

En búsqueda de posibles causas se han realizado estudios genéticos, pensando en cambios citogenéticos en los pólipos endometriales, cambios cromosómicos. que podrían producir

aumento de la proliferación (Spelman *et al.*, 1991; Dal Cin *et al.*, 1992; Menasce *et al.*, 1993), sin embargo los resultados no han clarificado su patogenia.

En nuestro estudio observamos que todos los pólipos presentan un marcado aumento de RE α y una casi nula expresión de RP. La expresión de RE fue principalmente de tipo estromal, mientras que a nivel glandular, la expresión se visualizó como gránulos de secreción dentro de las células del epitelio, lo que concuerda parcialmente con los trabajos de Maia *et al.* y Taylor *et al.*, quienes describieron un aumento de los RE y una débil expresión de RP, tanto en epitelio glandular como en el estroma de los pólipos.

Un hallazgo llamativo en nuestro estudio fue la presencia de RE α en el endotelio, especialmente asociado a los pequeños vasos que circundan el tejido glandular. Critchley *et al.* describieron la presencia de RE α y RE β en las células perivasculares y sólo RE β en el endotelio de los vasos del endometrio humano normal y sugieren que estos últimos mediarían alguno de los efectos directos de los estrógenos sobre los vasos, teniendo un efecto inhibitorio sobre la angiogénesis. En nuestro estudio realizado en endometrio patológico, como es el pólipo, la presencia aumentada de RE α estaría sustentando una proliferación vascular aumentada con carencia de efectos inhibitorios sobre ella.

Concluimos que los pólipos endometriales presentan una alteración de la distribución de los receptores, con un aumento localizado de los RE α en el estroma y en el epitelio glandular y una expresión casi nula de RP, destacándose la presencia de RE α en células perivasculares y en el endotelio de pequeños vasos. El aumento de los RE variaría la expresión de los RP, que disminuirían y dejarían de actuar como controladores naturales. La presencia aumentada de RE α en el endotelio de pequeños vasos es un hallazgo interesante que debería considerarse en investigaciones futuras.

VASCONCELLOS, A.; VILLAGRÁN, E.; ASTUDILLO, M. & CABEZAS, P. Immunocytochemistry study of estrogen receptor alpha fraction and progesterone in endometrial polyps. *Int. J. Morphol.*, 23(2):123-127, 2005.

SUMMARY: The endometrial polyps are a frequent cause of abnormal bleeding and in some cases responsible of sterility. Their pathogenesis is poorly understood. They are masses sessile or pedunculated that protrude into the endometrial cavity. The histologic pattern resembles proliferative endometrium with fibrous stroma and estrogenic glands that can show irregularity and occasionally hyperplasia.

The hormonal action is fundamental for the development of normal and pathologic endometrium. Quantitative alterations of the estrogen and progesterone receptors contribute to the pathogenesis of endometrial polyps. They could arise from localized overexpression of estrogen receptors (ER), reduced expression of progesterone receptors (PR) or both. This study was undertaken to evaluate with immunocytochemistry the presence of estrogen receptors alpha and progesterone receptors in endometrial polyps of 9 patients.

The intensity of staining was recorded on a scale high, moderate and weak or negative and compared with the staining in normal endometrium. High levels of ER α were seen in glandular epithelium, stroma and endothelial cells of capillaries that are surrounding the glands. The PR are negative or very weak in stroma and glands.

We conclude that endometrial polyps have an alternate distribution of the receptors with an increase in number of stromal and glandular epithelium ER alpha and a decrease of PR, detecting a large number of ER α in perivascular cells and in endothelial cells.

KEYWORDS: Endometrial polyps; Estrogen receptors; Progesterone receptors.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arteaga, U. E. Nuevos conceptos en el mecanismo de acción celular de los estrógenos. *Boletín de la Sociedad Chilena de Climaterio*, 3(4):3-4, 1998.
- Critchley, H. O. D.; Brenner, R. M.; Henderson, T. A.; Williams, K.; Nayak, N. R.; Slayden O. D.; Millar, M. R. & Saunders, P. T. K. Estrogen Receptor β , But Not Estrogen Receptor α , Is Present in the Vascular Endothelium of the Human and Nonhuman Primate Endometrium. *J. Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(3):1370-8, 2001.
- Dal Cin, P. De Wolf, F.; Klerckx, P. & van der Berg, H. The 6p21 chromosome region is non randomly involved in endometrial polyps. *Gynecol. Oncol.*, 46:393-6, 1992.
- Kurman, R. & Mazur, M. Benign diseases of the endometrium. In: Kurman R.J. ed Blaustein A: Pathology of the Female Genital Tract 4th ed. New York, Springer-Verlag., 1994. pp. 394-7.
- Lessey, B. A.; Killam, A. P.; Metzger, D.; Haney, A. F. *et al.* Immunohistochemical analysis of human uterine estrogen and progesterone receptors throughout the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. metab.*, 67:334-40, 1988.
- Levy, C.; Robel, P.; Gautray, J. P.; De Brux, J.; Verma U.; Descomps, B.; Baulieu, E. & Exchennig, B. Estradiol and progesterone receptors in human endometrium: normal and abnormal menstrual cycles and early pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 136:646-51, 1980.
- Maia, H.; Maltez, A.; Calmon, L. C.; Oliveira, M.; Marques, D. & Coutinho, E. M. Histopathology and steroid receptors in endometrial polyps of postmenopausal patients under hormone replacement therapy. *Gynaecol. Endosc.*, 7:267-72, 1998.
- Menasce, L. P.; Whitw, G. R.; Harrison, C. J. & Boyle, J.M. Localization of the estrogen receptor locus (ESR) to chromosome 6q25.1 by FISH and simple post-FISH banding technique. *Genomics*, 17:263-5, 1993.
- Mittal, K.; Schwartz, L.; Goswami, S. & Demopoulos, R. Estrogen and progesterone receptor expression in endometrial polyps. *J. Gynecol. Pathol.*, 15 (4):345-8, 1996.
- Moutsatsou, P. & Serekis, C. E. Estrogen and progesterone receptors in the endometrium *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 30: 816: 99-115, 1997.
- Ruiz Velasco, V.; González Alfani, G.; Pliego Sánchez, L. & Alamillo Vera, M. Endometrial pathology and infertility. *Fertil. Steril.*, 67:687-92, 1997.
- Savelli, L.; De Iaco, P.; Santini, D.; Rosati, F.; Ghi, T.; Pignotti, E. & Bovicelli, L. Histopathologic features and risk factors for benignity, hyperplasia, and cancer in endometrial polyps. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 188 (4): 927-31, 2003.
- Silva, E. G.; Tornos, C. S. & Follen-Mitchell, M. Malignant neoplasms of the uterine corpus in patients treated for breast carcinoma: the effects of tamoxifen. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 13:248-58, 1994.
- Spelman, F.; Cin, P. D.; Van Roy, N. *et al.* Is t (6:20) (p21;q13) a characteristic chromosome change in endometrial polyps? *Genes Chromosom Cancer*, 3:318-9, 1991.
- Sternberger, L. A. The unlabeled antibody (PAP) method introduction. *J. Histochem. Cytochem.*, 27(12):1657-65, 1979.
- Taylor, L. J.; Jackson, T. L.; Reid, J. G. & Duffy, S. R. G. The differential expression of estrogen receptors, progesterone receptors, Bcl-2 and Ki67 in endometrial polyps. *Int. J. Obstetrics and Gynaecology*, 110 (9):794-8, 2003.
- Wallach, E. The uterine factor in infertility. *Fertil. Steril.*, 23:138-48, 1972.

Dirección para correspondencia:
Prof. Dra. Adriana Vasconcellos Costa
Facultad de Medicina
Universidad de La Frontera
Casilla 54-D
Temuco - CHILE

Email:avascon@ufro.cl

Recibido : 14-04-2005
Aceptado: 22-03-2005