



UNIVERSIDAD NACIONAL
“PEDRO RUIZ GALLO”
ESCUELA DE POSTGRADO
DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SAUD



**RELACION ENTRE LAS CARACTERISTICAS PATOLOGICAS Y
EL GRADO HISTOLOGICO DEL CANCER DE MAMA CON SU
CLASIFICACION MOLECULAR EN LA REGION LAMBAYEQUE**

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD**

AUTOR

MG. VICTOR DANIEL LINARES BACA

ASESOR

Dra. BLANCA FALLA ALDANA

LAMBAYEQUE – PERU

2018



UNIVERSIDAD NACIONAL

“PEDRO RUIZ GALLO”

ESCUELA DE POSTGRADO

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SAUD

**RELACION ENTRE LAS CARACTERISTICAS
PATOLOGICAS Y EL GRADO HISTOLOGICO DEL
CANCER DE MAMA CON SU CLASIFICACION
MOLECULAR EN LA REGION LAMBAYEQUE**

MG. VICTOR DANIEL LINARES BACA
AUTOR

DRA. BLANCA FALLA ALDANA
ASESOR

**Presentada a la Escuela de Postgrado de la Universidad Nacional Pedro Ruiz
Gallo para optar el Grado de: DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD.**

APROBADO POR:

GUILLERMO CABREJOS SAMPEN
PRESIDENTE

NESTOR RODRIGUEZ ALAYO
SECRETARIO

CARLOS LABRIN PALACIOS
VOCAL

2018

DEDICATORIA

A **Laura**, mi esposa, por ser ejemplo de persona, inteligente y talentosa, por su paciencia y apoyo, el complemento de mi vida y una gran motivación.

A mis **hijas** Daniela y Andrea que la vida me regalo, por su comprensión y llenar de alegría mis días.

A mi hermano **Cesar Augusto**, quien partió tempranamente, compañero, amigo y consejero, ejemplo de vida.

Víctor Daniel Linares Baca

AGRADECIMIENTO

A la **Dra. Blanca Falla Aldana**, colega y amiga,
por su paciencia y colaboración incondicional,
con la calidad humana y profesional que la
caracteriza.

LUGAR DE EJECUCIÓN

Hospital Regional Lambayeque, Clínica del Pacífico, Hospital Privado Metropolitano, Clínica de Tumores y un Laboratorio Privado de Anatomía Patológica, del Departamento de Lambayeque durante los años 2013 al 2016.

ÁREA DE INVESTIGACIÓN

Ciencias Clínicas

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Enfermedades Neoplásicas

DURACIÓN DE EJECUCIÓN DEL PROYECTO

15 meses

FECHA DE INICIO

Enero 2017

FECHA DE TÉRMINO

Marzo de 2018

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| DEDICATORIA | 3 |
| AGRADECIMIENTO | 4 |
| ÍNDICE..... | 6 |
| RESUMEN..... | 7 |
| ABSTRACT | 8 |
| I. INTRODUCCIÓN..... | 9 |
| II. MATERIAL Y MÉTODOS..... | 37 |
| III. RESULTADOS..... | 42 |
| IV. DISCUSIÓN..... | 50 |
| V. CONCLUSIONES..... | 53 |
| VI. RECOMENDACIONES..... | 55 |
| VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 57 |
| ANEXOS | 62 |

RESUMEN

Introducción: Las mujeres con cáncer de mama presentan con mayor frecuencia características histológicas y moleculares que se interrelacionan, y en la actualidad se utilizan para establecer el tratamiento y estimar el pronóstico; sin embargo, no conocemos el perfil molecular en nuestro medio ni que características histológicas se relacionan con ellos.

Objetivo: Determinar si hay relación entre las características patológicas y el grado histológico del cáncer de mama con su clasificación molecular en pacientes del Departamento de Lambayeque Chiclayo, durante el período 2013-2016.

Material y Métodos: Se realizó una investigación de tipo cuantitativo, descriptivo, transversal, explicativo, retrospectivo-prospectivo. La población 214 pacientes con Cáncer de Mama diagnosticados por examen anatomopatológico y con estudio inmunohistoquímico de receptor de estrógeno, progesterona, Her 2 neu y Ki 67, en el Hospital Regional Lambayeque, Clínica del Pacífico, Hospital Privado Metropolitano, Clínica de Tumores y un Laboratorio Privado de Anatomía Patológica, del Departamento de Lambayeque durante los años 2013 al 2016.

Resultados: El tipo histológico predominante es el carcinoma ductal infiltrante de subtipo NOS. El grado histológico predominante para todos los subtipos de la clasificación molecular son el II y III, en el caso del II corresponde el 47.3%, siendo este predominante en el subtipo Luminal B con el 50% de los casos. En relación a la necrosis esta estuvo predominantemente en el grupo Basal (47%), seguida del Luminal A (20.4%), mientras que la invasión vascular y perineural fue predominante en el Luminal A (65.4 y 38.6%) seguida del Basal (38.6 y 30.7%). Finalmente, en nuestro estudio encontramos que el perfil inmunohistoquímico predominante corresponde a los subtipos Luminal A y B

Conclusiones: Existe un importante significado entre los diferentes subtipos moleculares, lo que se corrobora en este trabajo, demostrándose la importancia de los marcadores de Estrógeno, Progesterona y Cer-2-neu, para esta clasificación y el significado pronóstico y tratamiento en las pacientes con carcinoma infiltrante de mama.

ABSTRACT

Introduction: Women with breast cancer present interrelated histological and molecular features more frequently, and are currently used to establish treatment and estimate prognosis; however, we do not know the molecular profile in our environment or what histological characteristics are related to them.

Objective: To determine if there is a relation between the pathological characteristics and the histological grade of breast cancer with its molecular classification in patients of the Department of Lambayeque Chiclayo, during the 2013-2016 period.

Methods: We carried out a quantitative, descriptive, transversal, explanatory, retrospective-prospective investigation. The population 214 patients with breast cancer diagnosed by anatomopathological examination and with immunohistochemical study of estrogen receptor, progesterone, Her 2 neu and Ki 67, at the Lambayeque Regional Hospital, Pacifico Clinic, Metropolitan Private Hospital, Tumor Clinic and a Laboratory Private of Pathological Anatomy, of the Department of Lambayeque during the years 2013 to 2016.

Results: The predominant histological type is infiltrating ductal carcinoma of NOS subtype. The predominant histological grade for all the subtypes of the molecular classification are II and III, in the case of II corresponds 47.3%, being this predominant in the Luminal B subtype with 50% of the cases. In relation to necrosis, it was predominantly in the Basal group (47%), followed by Luminal A (20.4%), while vascular and perineural invasion was predominant in Luminal A (65.4 and 38.6%) followed by Basal (38.6). and 30.7%). Finally, in our study we found that the predominant immunohistochemical profile corresponds to the Luminal A and B subtypes

Conclusions: There is an important significance among the different molecular subtypes, which is corroborated in this work, demonstrating the importance of the markers of Estrogen, Progesterone and Cer-2-neu, for this classification and the prognostic meaning and treatment in patients with infiltrating carcinoma of the breast.

I. INTRODUCCIÓN.

I. INTRODUCCIÓN.

El cáncer de mama es una de las principales causas de muerte por neoplasias malignas de la población femenina en los países desarrollados. En España constituye el tumor maligno más frecuente en la mujer y su incidencia, según los registros de población, varía entre 40 y 75 por 100.000 mujeres. En los países en vías de desarrollo como el nuestro se encuentra ocupando el segundo lugar después del cáncer de cuello uterino. El riesgo estimado de padecer un cáncer de mama antes de los 75 años es de un 5% (AETS, 1995). Según las bases de datos del Instituto Nacional de Estadística de España, en 1997 fallecieron 164.426 mujeres, 34.269 de las muertes fueron causadas por tumores malignos y de éstas 5.766 se debieron al cáncer de mama. La media de edad de los fallecimientos es de 64,38 años, con una tasa cruda de mortalidad de un 29,43 por 100.000 habitantes, una tasa ajustada por edad con la población europea de 25,02, una tasa ajustada a la población mundial de 17,75 y una tasa truncada (35-64 años) ajustada con la población europea de 37,01. Estos datos la convierten en la primera causa de muerte por cáncer en la población femenina. (1,2,3,4) (Martínez de Aragón y Llácer, 1997; López-Abente *et al.*, 1997; INE, 2000)

En el Perú de acuerdo a la Vigilancia Epidemiológica de Cáncer, de un total de 109 914 casos notificados de cáncer en el periodo 2006-2011, los cánceres más frecuentes fueron los de cérvix (14.9%), estómago (11.1%), mama (10.3%) piel (6.6%) y próstata (5.8%). En el caso de las mujeres los más frecuentes son los de cérvix (24.1%) y el de mama (16.6%) y el de estómago (8.6%). De otro lado el comportamiento epidemiológico del cáncer de mama en las regiones de

la costa (Ancash, Ica, La libertad, Lambayeque, Lima Piura y Tumbes) es homogéneo.(2)

En la Región Lambayeque el cáncer de mama ocupa el segundo lugar en frecuencia (10.5%), y el primer lugar lo tiene el cáncer de cérvix (16.2%). (2)

Gracias a los programas de prevención, mediante mamografías de cribado e información a la población, se ha incrementado el diagnóstico de cánceres menores de un centímetro, de cánceres sin afectación ganglionar, de carcinomas in situ y de cánceres en pacientes en edad inferior a los 40 años. También se han obtenido avances importantes en el tratamiento quimioterápico adyuvante y se están ensayando nuevas estrategias terapéuticas en el campo de la inmunología. Sin embargo, a pesar de estos logros la mortalidad global no ha experimentado el descenso deseado, aunque algunos estudios atribuyen este efecto al incremento observado en la incidencia. Desde 1940 la mortalidad en España ha mostrado una tendencia creciente que es además evidente en todos los grupos de edad e independiente de los avances obtenidos en el tratamiento. Si se compara con el inicio de los años 80 el incremento ha sido de un 29 %. No obstante, desde 1992 la mortalidad con pequeñas variaciones no ha sufrido cambios significativos, observándose una estabilización en todos los grupos de edad (AETS, 1995; INE, 2000) (3, 4)

El cáncer de mama causa 1000 muertes al año en nuestro país, siendo la segunda causa de muerte por cáncer en la mujer. La base fundamental del tratamiento es la cirugía, la cual, según la evaluación de los caracteres clínicopatológicos puede complementarse con distintas terapias coadyuvantes (radioterapia, quimioterapia, hormonoterapia). Existe un grupo de pacientes en

las que, a pesar de la terapia, la enfermedad presentará un curso ominoso, con recidiva precoz y pobre sobrevida libre de enfermedad y sobrevida total. Las razones de esta mala evolución permanecen sin explicaciones precisas que permitan plantear terapias adecuadas para estas pacientes. El estudio histopatológico de los tumores proporciona gran cuantía de información que permite predecir el comportamiento biológico del tumor. El desarrollo de las técnicas inmunohistoquímicas, a su vez, ha permitido develar caracteres tumorales que son factores pronósticos y predictivos. El avance de los estudios moleculares en cáncer, ha proporcionado argumentos para establecer subclasificaciones de importancia diagnóstica y terapéutica, las cuales están acercando a la práctica diaria la deseada posibilidad de una terapia personalizada para las pacientes de cáncer de mama. Dentro de estos factores se han identificado una serie de alteraciones génicas que explicarían en parte algunos casos de mal pronóstico. En este artículo se presenta la clasificación molecular del cáncer de mama, haciendo énfasis en la descripción de los diferentes subtipos desde el punto de vista histopatológico y clínico.(5)

El cáncer de mama se clasifica con base en el estadio clínico, la morfología celular y el análisis inmunohistoquímico. Son necesarios factores pronósticos más precisos que ayuden en las decisiones terapéuticas. Utilizando microarreglos de cADN se determinó que existen varios subtipos de cáncer de mama con diferentes patrones de expresión genética y pronóstico. Estos hallazgos confirmaron las diferencias en el fenotipo y agregaron nuevos conocimientos sobre la biología del cáncer de mama. El cáncer de mama se divide en dos grupos principales basados en la presencia o ausencia de expresión del receptor de estrógeno (RE). El perfil de expresión genética reveló

que dentro de los tumores RE+ existen dos subtipos: luminal A y luminal B. Los tumores RE- comprenden también dos subtipos: HER2 y tipo basal. Estos subtipos muestran periodos libres de enfermedad cortos luego de su tratamiento y un pronóstico más sombrío. Esta clasificación ha mostrado la relación entre los microarreglos de cADN y el comportamiento clínico de estos tumores, y se propone como una forma de identificar a los pacientes que presentarán mejores respuesta (6)

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea con variadas apariencias morfológicas, características moleculares, comportamiento, así como diferente respuesta a la terapia. En la actualidad el manejo clínico rutinario del cáncer de mama se basa en la disponibilidad de pronósticos y predicciones clínicas y patológicas para apoyar la toma de decisiones clínicas, y de pacientes en los que las opciones de tratamiento potencialmente adecuadas están cada vez más disponibles. Uno de los factores pronósticos del cáncer de mama es el grado histológico, lo que representa la evaluación morfológica de las características biológicas del tumor y se ha demostrado que es capaz de generar información importante relacionada con el comportamiento clínico de los cánceres de mama.

Los estudios de perfiles de expresión basados en microarrays, de todo el genoma, han desentrañado varias características de la Biología del cáncer de mama, y han aportado pruebas adicionales de que las características biológicas son importantes en la determinación del comportamiento del tumor. Además, los estudios de perfil de expresión han generado datos clínicamente útiles, que han mejorado significativamente nuestra comprensión de la biología del cáncer de mama, y estos estudios están experimentando evaluaciones

como herramientas pronósticas y predictivas mejoradas en la práctica clínica. La aceptación clínica de estos ensayos requerirán que sean más que costosos sustitutos de los factores tradicionales establecidos, tales como el grado histológico. Es esencial que proporcionen información pronóstica o predictiva adicional por encima y más allá de aquella que tenemos con los parámetros actuales. En este sentido, se presenta un análisis de la validez del grado histológico como factor pronóstico y una opinión consensuada sobre la importancia del grado histológico y su papel en la clasificación y estadificación del cáncer de mama En esta era de uso clínico emergente de clasificadores moleculares.(7)

Factores clasificados en la categoría I incluyeron información de estadificación TNM, grado histológico, histológico Tipo, cifras mitóticas de la figura, y estado del receptor hormonal. Los factores de la Categoría II incluyeron c-erbB-2 (Her2-neu), proliferación, invasión de canales linfáticos y vasculares, y p53. Los factores de la categoría III incluían la ploidía del ADN análisis, densidad de microvasos, receptor del factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento transformante- α , bcl-2, pS2 y catepsina D. Este informe constituye un esquema detallado y definido de conclusiones y recomendaciones de la conferencia del grupo de consenso organizado de acuerdo a las directrices establecidas.(8)

Se realizó un estudio para establecer las relaciones entre el grado histológico y otros Parámetros clínico-patológicos incluyendo subtipo intrínseco en mujeres taiwanesas con cáncer. Hubo 1302 mujeres diagnosticadas con cáncer de mama reclutadas. El grado histológico se puntuó de acuerdo con el sistema de calificación Bloom-Richardson modificado por Nottingham. El alto grado de

tumor se asoció con un mayor tamaño tumoral ($P = 0,021$), un mayor número de metástasis de ganglios linfáticos ($P = 0,001$), estadio clínico avanzado ($P = 0,010$), mayor positividad del receptor de crecimiento epitelial humano 2 ($P < 0,001$), receptor de estrógeno y progesterona negativos ($P < 0,0001$). El cáncer de mama triple negativo (56,6%) y el cáncer humano subtipo de receptor de crecimiento epitelial-2 (44,3%), se asociaron con más Cáncer grado III en contraste con el cáncer de mama luminal A (22,3%) y B (29,9%). En análisis Cox multivariable de regresión para la supervivencia específica del cáncer, grado histológico (hazard ratio = 1,78) fue un Factor pronóstico significativo.

Se demostró que el grado histológico está altamente correlacionado con algunos Valiosos biomarcadores y confirmó la importancia del grado histológico en mujeres taiwanesas con Cáncer de mama.(9)

El carcinoma de mama representa un grupo de tumores que muestra un comportamiento biológico muy diverso y una gran variabilidad clínica. La clasificación histológica actual de los carcinomas de mama no refleja la heterogeneidad de los tumores en su comportamiento biológico ni permite identificar los pacientes que presentarán mejores respuestas y beneficios con las diferentes modalidades terapéuticas. Actualmente se asume que, la diversidad clínica y pronóstica de carcinomas de mama que son semejantes y homogéneos en cuanto a sus factores pronósticos clásicos, se establece a nivel molecular, al expresar distintos genes que les confieren variabilidad biológica y pronóstica. Durante los últimos años, el estudio de estos genes ha hecho posible, por un lado, comprender el comportamiento biológico del cáncer de mama y, por otro lado, individualizar el pronóstico y el tratamiento de algunos pacientes(10, 11).

El avance de las tecnologías de análisis genómico ha permitido clasificar los carcinomas de mama en cinco subtipos: luminal A y B, HER2-positivo, basal y similar a la mama normal (12). Los carcinomas de mama de tipo luminal son los subtipos con mejor pronóstico y se caracterizan por expresar el gen del receptor estrogénico, genes asociados (LIV1 y ciclina D1) y queratinas de bajo peso molecular (CK7, CK8, CK18, etc.), de forma semejante al epitelio luminal de los conductos mamarios. Al expresar receptores de estrógenos (RE), estos tumores pueden tratarse con tamoxifeno o inhibidores de la aromatasa pero muestran una baja respuesta a la quimioterapia neoadyuvante. El carcinoma de mama HER2-positivo muestra expresión aumentada de genes asociados a c-erbB-2 y suele asociarse a otros marcadores de mal pronóstico, incluyendo alteraciones de otros genes como topoisomerasa II alfa, GATA4, genes de angiogénesis y proteólisis. Aunque muestran una mejor respuesta a la quimioterapia y cerca de 50% responde al tratamiento con trastuzumab, el pronóstico es malo. El subtipo basal se caracteriza por la sobreexpresión de citoqueratinas características de la capa basal (CK5/6, CK17) y la expresión de genes relacionados con la proliferación celular. Estos tumores suelen presentar mutaciones en el gen oncosupresor p53, sobreexpresan el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y se caracterizan por la ausencia de expresión de RE y de genes relacionados y de HER2. Este subtipo se asocia a la mutación BRCA1 y presenta el comportamiento más agresivo a pesar de su alta sensibilidad a la quimioterapia. El carcinoma de mama de tipo normal comparte características del tejido mamario normal, muestra una fuerte expresión de genes normalmente expresados en el tejido adiposo y baja expresión de genes epiteliales luminales.

Aunque en el momento actual se considera que el análisis de los perfiles de expresión génica constituye la mejor forma de clasificar los carcinomas de mama, en la mayoría de los hospitales su uso se encuentra limitado ya que son técnicas caras y difíciles de aplicar en material parafinado. En la práctica, la mayor parte de los diagnósticos de rutina se realiza mediante HE y técnicas de inmunohistoquímica (IHQ). Diversos estudios sugieren que, con un limitado número de marcadores inmunohistoquímicos (RE, RP, c-erbB-2, queratinas basales o de alto peso molecular, queratinas lumbinales o de bajo peso molecular, P63 y EGFR como marcadores más relevantes) 4-6, se pueden catalogar los carcinomas de mama en subtipos equivalentes a aquéllos basados en perfiles de expresión génica. La ventaja del estudio IHQ es que utiliza marcadores que se encuentran disponibles en la mayoría de los servicios de Anatomía Patológica y puede aplicarse sobre material archivado del que se puede obtener información clínica y evolutiva (13).

Una de las áreas de la biomedicina que más se han beneficiado de la caracterización del genoma ha sido la oncología, tanto para entender los mecanismos básicos de los procesos de transformación neoplásica, como para el desarrollo de nuevos servicios para un mejor pronóstico y evaluación del riesgo en pacientes oncológicos. Esto ha abierto una nueva área de investigación en oncología basada en la caracterización genómica de las neoplasias: la oncogenómica.(14-18)

El cáncer de mama constituye uno de los primeros ejemplos de la traducción de la investigación genómica a las aplicaciones clínicas. A partir de perfiles moleculares se ha conseguido una mejor clasificación de los tumores y el

desarrollo de nuevos fármacos, así como nuevos productos que tienen ya una aplicación clínica e instrumentos de evaluación de riesgo y respuesta terapéutica.

Clasificación genómica del cáncer de mama

Los primeros trabajos que analizaron los cambios en los patrones de expresión génica en el tejido mamario se llevaron a cabo al comparar la expresión de 8102 genes en 65 muestras quirúrgicas de cáncer de mama para obtener “firmas” o “fotografías” moleculares de cada tumor. Los resultados de dicho estudio evidenciaron la presencia de diversos fenotipos moleculares y ello sugirió la existencia de una gran diversidad biológica en los tumores mamarios:

1. El grupo *ERBB2*, que expresa altos niveles del gen *ERBB2*, así como de otros genes localizados en el amplicón *ERBB2* (negativos al receptor de estrógenos). Estos tumores muestran una mejor respuesta a la quimioterapia y cerca de 50% responde al tratamiento con Trastuzumab.
2. El grupo “parecido al normal” se caracteriza por expresar un gran número de genes propios del epitelio mamario normal (negativos al receptor de estrógenos).
3. El grupo “basal” expresa genes característicos de las células basales de la mama, en particular queratinas 5 y 17, y son negativos al receptor de estrógenos y amplificación de *ERBB2*, es decir, son negativos triples. Este subtipo tiene el pronóstico más sombrío.
4. El grupo “luminal” se distingue por la expresión, relativamente alta, de muchos genes expresados en las células epiteliales de la luz de los conductos mamarios, incluido el receptor de estrógenos. Son tumores negativos a *ERBB2* y suelen tener la mejor tasa de supervivencia.

Los análisis genómicos iniciales han demostrado que dentro de la denominación “tumores negativos a receptor de estrógenos” se encuentran al menos tres entidades biológicamente distintas (grupos 1 a 3), las cuales deberían tratarse como enfermedades diferentes.(19, 20) En un estudio posterior se analizaron 78 carcinomas mediante un microarreglo de 8 102 genes. Este trabajo permitió depurar la lista de genes capaces de diferenciar a los cuatro patrones previamente descritos y reducirla a 476 genes, algo que se conoce como perfil intrínseco de expresión. De esta forma, se han logrado relacionar perfiles de expresión genómica con la sobrevida general de las pacientes. En consecuencia, los subtipos *ERBB2* y el basal parecen vincularse con una menor sobrevida. Asimismo, los tumores de los subgrupos luminal B y luminal C se identificaron como entidades clínicas diferentes con un curso más agresivo, en particular en relación con la reincidencia del tumor.(21)

De manera paralela, otro grupo de investigación analizó los patrones de expresión de unos 25 000 genes en 117 tumores de mama. Al aplicar una medida de clasificación supervisada, se identificó un patrón de 70 genes que resultó altamente predictivo para el desarrollo de metástasis distantes en un periodo de cinco años en pacientes sin evidencia de metástasis linfática regional. Este hallazgo indica que es posible llevar a cabo evaluaciones pronósticas del curso clínico en tumores de mama a partir del análisis de la lesión primaria. Este trabajo demuestra la utilidad de las firmas moleculares para detectar patrones de expresión que tienen un mayor valor predictivo que los parámetros clínicos tradicionales. Además, permite reconocer a los pacientes que se beneficiarán en mayor proporción del tratamiento adyuvante

al analizar tumores primarios de mujeres jóvenes en estadios I y II (menores de 53 años).(22, 23)

Además de la utilidad predictiva, la estadificación basada en patrones de expresión se correlaciona con la respuesta a la quimioterapia preoperatoria. En consecuencia, a través del análisis del tejido obtenido de biopsias por aspirado de aguja fina se determinó que los subtipos parecido al basal y *ERBB2* son más sensibles al tratamiento preoperatorio con paclitaxel y doxorrubicina en comparación con los patrones parecido a normal y luminal.(24)

La utilidad clínica y la relevancia biológica de estos hallazgos también se demostraron al analizar los patrones de expresión de lesiones metastásicas, en las cuales se identificó un patrón de expresión muy similar al del tumor primario, aun si la metástasis distante se desarrollaba años después del diagnóstico y se encontraba en un microambiente distinto al del tumor primario.(25, 26)

Diferentes perfiles de expresión y evaluación del riesgo

Para evaluar la correlación entre los resultados obtenidos con el perfil de genes intrínseco y la predicción del curso clínico con base en el patrón de expresión de 70 genes, se analizaron 115 tumores independientes, con agrupamiento jerárquico basado en los 534 genes que mejor diferenciaban a los subtipos luminal, basal, *ERBB2* y parecido a normal. Este mismo análisis se aplicó a los datos, de los cuales se obtuvo el patrón predictivo de los 70 genes. Los resultados indicaron que, cualquiera que fuera la plataforma de microarreglos utilizada, se reproduce de forma consistente la identificación de los subgrupos de tumores en datos generados de forma independiente.

Además de corroborar la presencia de los subgrupos, este trabajo permitió correlacionar al subtipo de tumores con patrones de expresión basal y *ERBB2* con el grupo de alto riesgo, definido por el patrón de 70 genes, mientras que los subtipos luminal A y luminal B mostraron una correlación con un buen pronóstico y un pronóstico intermedio, respectivamente.(27)

Dado que se han desarrollado diferentes tipos de patrones de expresión con capacidades predictivas en distintas cohortes de pacientes y cada grupo ha utilizado plataformas tecnológicas diferentes, la lista de genes específicos muestra poca sobreposición entre los distintos estudios. Esto puede impedir la aplicación clínica de tales hallazgos. El problema se analizó mediante la comparación de cinco patrones de expresión en una cohorte de 295 pacientes en relación con su capacidad de evaluar riesgo, al margen de los genes analizados en cada uno de los perfiles. Se compararon cinco patrones: a) el modelo de progresión basado en 70 genes (MammaPrint™);(22, 23) b) modelo de respuesta a heridas; (28, 29) c) puntaje de recurrencia (OncotypeDX™);(30, 31) d) modelo de subtipos intrínsecos (luminal A, luminal B, *ERBB*, receptor de estrógenos negativo, basal y parecido a normal);(11, 32) y e) modelo de tasa de expresión de dos genes (relación de tasa de expresión entre *HOXB13* e *IL17BR*).

Los resultados indican que la mayor parte de los modelos presenta niveles altos de concordancia en cuanto a su capacidad de predicción clínica en muestras individuales. Casi todos los tumores que se identificaron como basales, *ERBB2*-negativos a receptor de estrógenos o luminales B también se clasificaron en el grupo de mal pronóstico mediante los modelos de 70 genes,

activación de respuesta a heridas y una elevada puntuación de recurrencia. El patrón de 70 genes y el modelo de puntuación de recurrencia concordaron en la clasificación de desenlace clínico en 77 a 81% de los casos, lo cual resulta relevante, dado que estas pruebas se aplican ya en el ámbito clínico.(33)

BASES MOLECULARES:

Existen múltiples formas de determinar la expresión génica de un tumor, siendo el uso de *c-DNA microarray* el método de mayor difusión en la actualidad. Este procedimiento se basa en la hibridación de moléculas de DNA complementario (c-DNA), preparadas a partir de RNA aislado del tejido tumoral, con secuencias del genoma humano impresas en un soporte sólido (láminas de vidrio o membranas de nitrocelulosa). Con la finalidad de conocer qué genes se están expresando en el tumor, el c-DNA es marcado con una molécula fluorescente, la cual será posteriormente detectada dependiendo de su longitud de onda (34).

CLASIFICACIÓN MOLECULAR:

Los primeros trabajos que analizaron los cambios en los patrones de expresión génica en el tejido mamario se llevaron a cabo por **Perou y Sorlie (35)** al comparar la expresión de 8102 genes en 65 muestras quirúrgicas de cáncer de mama para obtener “firmas” o “fotografías” moleculares de cada tumor. Los resultados de dicho estudio evidenciaron la presencia de diversos fenotipos moleculares sugiriendo la existencia de una gran diversidad biológica en los tumores mamarios, estableciendo cuatro subtipos principales: 1) Luminal; 2) Similar al basal; 3) Similar al normal y 4) *HER2/ERBB2*. Este procedimiento

identificó subgrupos de tumores más homogéneos con un comportamiento clínico similar. Sin embargo, existe variabilidad de respuesta terapéutica dentro de un mismo grupo, planteando la teoría de que diferentes tipos de cánceres mamarios están comandados por genes distintos.

En un estudio posterior, llevado a cabo en el año **2001** por **Sorlie y col (36)**, se analizaron 78 carcinomas mediante microarray c-DNA de 8102 genes. Este trabajo permitió depurar la lista de genes capaces de diferenciar los cuatro patrones previamente descritos y reducirla a 476 genes, algo que actualmente se conoce como perfil intrínseco de expresión. De esta forma, se han logrado relacionar perfiles de expresión genómica con la supervivencia global de las pacientes. En consecuencia, los subtipos *ERB2* y el basal parecen relacionarse con una menor esperanza de vida. Asimismo, los tumores de los subgrupos luminal se identificaron como entidades clínicas con un curso más agresivo, en particular en relación con la reincidencia del tumor.

De manera paralela, el grupo de investigación de **Vant' Veer y col (37, 38)** analizó los patrones de expresión de unos 25.000 genes en 117 tumores de mama. Al aplicar una medida de clasificación supervisada, se identificó un patrón de 70 genes que resultó altamente predictivo para el desarrollo de metástasis a distancia en un periodo de 5 años en pacientes sin evidencia de afectación ganglionar local. Este trabajo demuestra la utilidad de los mapas moleculares para detectar patrones de expresión que tienen un mayor valor predictivo que los parámetros clínicos tradicionales. Además, permite reconocer a los pacientes que se beneficiarán en mayor o menor proporción del tratamiento adyuvante. Este trabajo es sobre el que se apoya actualmente el test de Mammaprint®.

Fue en el año **2003**, cuando el grupo de **Sorlie y col** (39) modificaron la clasificación, en los patrones de expresión génica que se relacionan con el pronóstico o con el riesgo de metástasis. Estos autores dividieron el cáncer de mama en dos grandes grupos, basados en la positividad para el receptor de estrógeno (Tabla 1):

1. **Neoplasias de bajo grado** (expresan receptores de estrógeno y progesterona)
2. **Neoplasias de alto grado** (no expresan receptores de estrógeno ni progesterona, pero en las cuales existe una sobreexpresión y/o amplificación de *HER2*).

| | |
|---------------------------------------|--|
| Receptor de Estrógeno Positivo | Luminal A Luminal B Luminal HER2/neu |
| Receptor de Estrógeno Negativo | Basal HER2/neu Normal Like |

Tabla 1. Clasificación de los subtipos de cáncer de mama

Tumores Receptor de Estrógeno Positivo

Este grupo de tumores comprende los tumores luminales, los cuales poseen un patrón inmunofenotípico similar al componente epitelial luminal de la glándula mamaria. Expresan citoqueratinas de bajo peso molecular (CK7, CK8, CK18, etc), receptores de estrógeno y los genes asociados a su activación (LIV1 y CCND1). Habitualmente son de bajo grado histológico y tienen mutación de p53 en menos del 20%.

Existen varios subtipos, sin embargo los más considerados debido a su elevada frecuencia con el Luminal A y B.

- Luminal A: es el más frecuente (67%), posee alta expresión de genes relacionados con los receptores hormonales y baja expresión de genes relacionados con la proliferación celular.

- Luminal B: presenta unos menores niveles de receptores de estrógeno y altos niveles de genes de proliferación celular

Es necesario mencionar el subtipo Luminal HER2/neu, que se caracteriza además citoqueratinas CK9 y CK10.

Algunos autores han intentado subtipificar los tumores mamarios utilizando paneles de inmunotinción, como una forma de acercar estos hallazgos a la práctica rutinaria de los laboratorios de anatomía patológica. El estudio publicado por **Cheang y col (40) en el año 2009** supuso un aporte valioso al estudio de los tumores luminales. Ellos probaron un panel de inmunotinción constituido por cuatro marcadores, que establecen el estado de los receptores de estrógeno y progesterona, HER2/neu y el índice de proliferación determinado por la expresión de Ki-67, el cual corresponde a un antígeno nuclear presente en todas las células que se encuentran en la fase proliferativa del ciclo celular. Se estudió un total de 357 cánceres de mama con este panel, siendo posible la discriminación entre los subtipos Luminal A y Luminal B (41).

De esta forma los tumores luminales fueron divididos en tres grupos:

- Luminal A (receptores de estrógeno o progesterona positivos, HER2/neu negativo, y bajo índice de proliferación)

- Luminal B (receptores de estrógeno o progesterona positivos, HER2/neu negativo e índice de proliferación alto.

- Luminal HER2/neu (receptores de estrógeno y progesterona negativos, HER2/neu positivo y alto índice de proliferación)

Se determinó que un punto de corte para el valor de Ki-67 podría ser el 14% o superior para considerarlo de alto índice de proliferación (Tabla 2)

| Subtipo | RE | RP | HER2/neu | Índice de proliferación Ki-67 |
|------------------|----|-------|----------|-------------------------------|
| Luminal A | + | y/o + | - | Bajo (< 14%) |
| Luminal B | + | y/o + | - | Alto (> 14%) |
| Luminal HER2/neu | - | - | + | Alto |

Tabla 2. Clasificación de los tumores receptor de estrógeno positivo.

Cheang y col

La importancia pronóstica de la citada subtipificación fue revisada por los mismos autores en una serie de 4046 casos de cáncer de mama mediante microarrays c-DNA. Al compararlos con el subtipo Luminal A, tanto el Luminal B como el Luminal HER2/neu, se asociaron a peores tasas de supervivencia en presencia o ausencia de terapia con Tamoxifeno y/o quimioterapia. Los tipos A y B son de buen pronóstico, pero el tipo B tiene un peor pronóstico que el A, ya que al expresar menor cantidad de receptores de estrógeno, la respuesta al tratamiento también va a ser menor. No obstante, en ambos casos el tratamiento de elección es la hormonoterapia.

Se ha descrito que los tumores RE positivo tienen menor respuesta a la quimioterapia comparado con los tumores que no expresan dichos receptores. Los tumores Luminales tienen un 6% de respuesta completa a la quimioterapia neoadyuvante en comparación al 45% en los subtipos basal y HER2/neu (42).

Tumores Receptor de Estrógeno Negativo

Existen dos grandes grupos: el subtipo basal y el subtipo con sobreexpresión de *HER2/neu*.

1. Subtipo Basal

El subtipo basal/mioepitelial, se describió originalmente por su patrón de expresión inmunohistoquímico, al comprobarse que expresan citoqueratinas de alto peso molecular (CK5 y CK7) en sus células mioepiteliales. Este subtipo también expresa c-kit (tirosina quinasa del epitelio mamario), factores de crecimiento de hepatocito e insulina, calponina1, caveolina y laminina. Fue reconocido como *triple negativo* por ser RE negativo, RP negativo y HER2/neu negativo. Asocian además alteraciones en los genes reparadores del ADN. El promotor BRCA1 está metilado, ocasionando un silenciamiento de su expresión génica o una inactivación transcripcional. El 80% de las mujeres que nacen con mutaciones BRCA1 tienen un subtipo basal, aunque estos casos suponen un pequeño porcentaje del total de tumores del subtipo basal, ya que la mayoría son de tipo esporádico (43). Supone entre el 2% y el 18% del total de los cánceres de mama y los datos clínicos actuales muestran que es el subtipo más agresivo, con una supervivencia global baja, debido a que las terapias endocrinas y con Trastuzumab son ineficaces en este grupo de tumores.

2. Subtipo de sobre-expresión de *HER2/neu*

Este subtipo supone entre el 10 al 15% del total de cánceres de mama y sobreexpresa genes ubicados en el cromosoma 17q. Incluyen el gen del *EGFR-2 (ERBB2)* y el *grow factor receptor bound protrein 7 (GRB7)*, además de sobreexpresar genes de proliferación y presentar escasos genes asociados al fenotipo luminal.

El *ERBB2* es un proto-oncogén que cuando aparece amplificado se asocia con caracteres histopatológicos de mal pronóstico, tales como alto grado histológico, baja expresión de RE y RP, además de mala respuesta a la terapia. Van a suponer la mitad de los cánceres de mama que son *HER2/neu* positivos

(41). Este subtipo es particularmente resistente a la terapia hormonal, por la ausencia de receptores hormonales. Sin embargo, los tratamientos basados en el anticuerpo monoclonal recombinante (Trastuzumab/Herceptin) producen una mejoría significativa de los pacientes. La amplificación de *ERBB2* y la sobreexpresión de su proteína *HER2/neu* puede ser evaluada con precisión mediante FISH o IHQ.

Finalmente **Schnitt (44)** en el año **2009** realizó modificaciones a la clasificación de los subtipos de cáncer de mama determinados por perfiles de expresión génica.

| Subtipo | Inmunofenotipo | Comportamiento |
|-------------------------|---|--|
| Luminal A | RE (+) y/o RP (+); HER2/neu (-) | <ul style="list-style-type: none"> • Subtipo más común y menos agresivo. Buen pronóstico. • Bajo grado histológico. Respuesta hormonal. • Asociado a incremento de edad. |
| Luminal B | RE (+) y/o RP (+); HER2/neu (+) | <ul style="list-style-type: none"> • Similar al Subtipo Luminal A. • Peor resultado que el Subtipo Luminal A. • Más frecuentemente RE (+)/RP (-). |
| Basal | RE (-); RP (-); HER2/neu (-) CK 5/6 (+) y/o EGFR (+) | <ul style="list-style-type: none"> • Subtipo agresivo. • Alto grado histológico e índice mitótico. • Riesgo en edades menores (<40 años). • Más frecuente en mujeres premenopáusicas afroamericanas. |
| HER2/neu (+); RE (-) | RE (-); RP (-); HER2/neu (+) | <ul style="list-style-type: none"> • Menos común. Subtipo altamente agresivo. • Alto grado histológico. • Riesgo en mujeres <40 años, mayor que el subtipo luminal. • La etnia afroamericana puede ser un factor de riesgo. • Resultado mejorado por HER2/neu (+). |

CORRELACIÓN ENTRE PERFILES DE EXPRESIÓN GENÓMICA Y PATRONES DE ALTERACIÓN DEL DNA

El análisis de aberraciones en el número de copias de DNA en el cáncer de mama ha identificado regiones específicas de amplificaciones en 8q11, 1q21, 17q11 y 11q13, así como deleciones en segmentos que contienen genes supresores de tumores conocidos, como *PTEN* y *CDKN2A*.

En términos comparativos, los tumores del subtipo basal presentan más alteraciones en el número de copias que los otros subtipos, lo que indica un mayor grado de inestabilidad cromosómica.

Entre los sitios de interés de amplificación relacionados con peor pronóstico clínico se encuentran 8q33.3 (*EDD1*, *WDSOF1*), 8q24.11-13 (*THRAP6*, *DCC1*, *SQLE*, *SPG8*) y 11q14.1 (*NDUFC2*, *ALG8*, *USP35*). La amplificación de cualquiera de estas regiones permite identificar a pacientes con una menor tasa de supervivencia y presentación de metástasis a distancia al margen de otros parámetros clínicos (45).

APLICACIÓN DE LOS ESTUDIOS MOLECULARES: PLATAFORMAS GENÓMICAS:

Como se ha descrito anteriormente, los estudios que utilizan perfiles de expresión génica buscan definir patrones que permitan predecir la evolución clínica que tendrán grupos de pacientes muy bien definidos. La enorme cantidad de datos que generan estos estudios deben ser evaluados con modelos matemáticos y estadísticos, para determinar aquellos grupos de genes que discriminan estableciendo así diferentes *plataformas genómicas*.

Actualmente existen multitud de plataformas genómicas que describen el comportamiento del cáncer de mama, siendo las de mayor uso y distribución mundial el Mammaprint, Oncotype DX y Mammostrat.

Test Mammaprint®

La prueba de Mammaprint® es una plataforma de expresión genética para la que se requiere tejido tumoral fresco congelado que incluya un mínimo del 30% de células malignas. Usa una plataforma genética de 70 genes para clasificar a las pacientes como alto o bajo riesgo de recidiva a distancia del cáncer de

mama en mujeres en estadio temprano de la enfermedad, para establecer si está indicado o no el uso de la quimioterapia como tratamiento adyuvante.

El test se desarrolló en 117 pacientes con cáncer de mama y axila negativa del Instituto Holándes de Cáncer. Se identificó un set de 70 genes cuyo perfil de expresión permitió definir una firma genética que se correlacionaba con una elevada tasa de recidiva a distancia. Posteriormente, sobre una población de 295 pacientes, se llegó a la conclusión de que aquellas con perfil genético desfavorable presentaron tasas de supervivencia libre de recaída, a diez años, del 50.6%, mientras que, en las pacientes con el perfil favorable, esta tasa fue del 85%. El perfil genético resultó un factor pronóstico con un Odds ratio (OR) de 5.1 para las metástasis a distancia, independiente de otros factores pronósticos en el análisis multivariante. Un segundo estudio de validación, realizado en 302 pacientes de cinco centros europeos (TRANSBIG), confirmó estos resultados (46, 47)

En el estudio prospectivo multicéntrico TRAMA se estudia el impacto clínico en la toma de decisiones basadas en los mapas genéticos obtenidos por microarray cDNA y el tratamiento quimioterápico adyuvante. En este estudio se observó una considerable discrepancia en las estimaciones de riesgo entre las pautas clínico-patológicas y Mammaprint. La adición de Mammaprint a factores clínico-patológicos estándar condujo a un cambio de orientación sobre el tratamiento sistémico adyuvante en el 19% de las pacientes. Tras seguir a las pacientes durante una media de 61.6 meses, el 15% (33/219) de las pacientes bajo riesgo Mammaprint recibieron quimioterapia adyuvante en comparación con el 81% (169/208) de las pacientes alto riesgo Mammaprint. En un análisis de seguimiento a los 5 años, las pacientes sin recidiva para el intervalo

Mammaprint bajo riesgo (n=219) y alto riesgo (n=208) de las pacientes fueron del 97% y 92%, respectivamente. La decisión de no utilizar la quimioterapia adyuvante basada en el resultados de Mammaprint de bajo riesgo, no afectó significativamente los resultados de las pacientes (48, 49)

En el Congreso Internacional de Expertos de St Gallen celebrado en el año 2013 se llega a la conclusión de que el tratamiento primario del cáncer de mama temprano debe incluir mapas de expresión genómica como indicador para el uso de la terapia adyuvante (50). Además, las Guías de Práctica Clínica para el cáncer de mama de la Sociedad Europea de Oncología Médica (ESMO) incluyen el uso de MammaPrint para obtener información adicional sobre el pronóstico paciente específico así como predecir el beneficio de la quimioterapia adyuvante (51).

El problema de las diferencias entre instituciones en la interpretación de los factores pronóstico y predictivos del cáncer de mama basado en el análisis inmunohistoquímico, que pueden afectar sustancialmente al asesoramiento sobre el tratamiento quimioterápico adyuvante, creando un riesgo potencial de sobretreatment, podrían solucionarse mediante la introducción de un programa multigenético centralizado que propusiera recomendaciones de tratamiento más formales y estandarizadas en toda Europa.

Test OncotypeDX®

Es un test que valora mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) la expresión de 21 genes, 16 de ellos relacionados con el cáncer de mama y cinco de referencia, en el ARN obtenido del tejido tumoral y fijado en formalina e incluido en parafina. El nivel de expresión de los genes se analiza y se obtiene un valor que se denomina *recurrence score* (puntuación

de recaída), que a su vez define el riesgo de recaída de la enfermedad. El test se desarrolló y validó en pacientes con cáncer de mama en estadios I y II sin afectación ganglionar y con expresión positiva a receptores de estrógeno que recibieron tamoxifeno (ensayo NSABP B-14), lo que permitió clasificar a las pacientes en tres grupos pronósticos según el *recurrence score (RS)*:

- Riesgo bajo (RS <18)
- Riesgo intermedio (RS= 18-30)
- Riesgo alto (RS >31)

En un estudio llevado a cabo en el Reino Unido por *Holt y col.* en el año 2013 sobre un total de 146 mujeres con cáncer de mama sin afectación ganglionar, se quería establecer una relación entre los resultados de Oncotype DX y necesidad de quimioterapia adyuvante. Los resultados concluyeron que la prueba Oncotype DX dio lugar a cambios en las decisiones de tratamiento con quimioterapia en el 26.8% de las pacientes, reduciendo su uso general en el 9.9% de las mismas. Un análisis de conflictos de decisión mostró que la prueba aumentaba la confianza de las pacientes en la toma de decisiones respecto al tratamiento, aumentando así la adherencia al mismo (52) .

Por lo tanto su uso está destinado a estimar el riesgo de recurrencia del cáncer de mama con receptores de estrógeno positivo en estadios temprano (III), así como el beneficio de la quimioterapia adyuvante. Otra indicación de la prueba es estimar el riesgo de recurrencia del carcinoma ductal in situ o la probabilidad paciente-específico de respuesta a la radioterapia después de la cirugía del carcinoma ductal in situ.

Mammostrat®

Mammostrat es un test genético que estima el riesgo de recurrencia del cáncer de mama en estadios tempranos de la enfermedad y que presentan receptores hormonales positivos, independientemente de la proliferación y el grado histológico. Se basa en cinco biomarcadores (SLC7A5, HTF9C, P53, NDRG1, CEACAM5) que se combinan en un algoritmo matemático definido, resultando un índice de riesgo que clasifica a las pacientes en bajo, medio y alto riesgo.

En un análisis retrospectivo con 4598 pacientes del estudio TEAM (53) se ha demostrado que el riesgo basado en la puntuación del test Mammostrat proporciona información independiente sobre el riesgo de recidiva en pacientes con receptores de estrógeno positivo posmenopáusicas tratadas con exemestano durante 5 años frente a pacientes tratadas con tamoxifeno y posteriormente exemestano durante 5 años.

Por lo tanto, la puntuación de riesgo Mammostrat añade información sobre el riesgo residual después de la terapia hormonal en el cáncer de mama con receptores de estrógeno positivo. De esta forma las pacientes que se incluyen en el grupo de alto riesgo tienen más posibilidades de beneficiarse de la terapia adyuvante sistémica, además de la terapia hormonal, después de la cirugía. Sin embargo, en las pacientes de bajo riesgo, se podría evitar el uso de la quimioterapia, la cual probablemente no aportaría beneficios, evitando así el sobretratamiento y los efectos secundarios que de ello deriva.

En conclusión la poderosa irrupción de las técnicas moleculares en el estudio del cáncer de mama, ha proporcionado sólidos argumentos para una clasificación del cáncer mamario en grupos definidos por sus patrones de expresión génica y cuyo comportamiento clínico y biológico sea predecible en

casos individualizados, pudiendo identificar aquellas pacientes que se beneficiarían de las diferentes líneas de tratamiento disponibles y también de las terapias en desarrollo que contemplan como dianas terapéuticas aquellas relacionadas con las diferentes vías de señalización intracelular.

La implantación de las técnicas moleculares en el estudio rutinario del cáncer de mama requerirá de un largo proceso de validación, estandarización y obviamente, disminución de los costos de procesamiento.

El análisis de los datos que aportarán los grandes estudios multicéntricos que se están llevando a cabo en la actualidad serán la base de futuros protocolos de tratamiento en la práctica clínica habitual, pudiendo indicar con datos objetivos qué pacientes serían las “candidatas perfectas” a tratamiento quimioterápico adyuvante.

Mientras tanto, el manejo de las pacientes con cáncer de mama en nuestro medio sigue dependiendo del estudio inmunohistológico y de los factores pronósticos y predictivos tradicionales. Diversos estudios sugieren que, con un limitado número de marcadores inmunohistoquímicos (RE, RP, cerbB- 2, queratinas basales o de alto peso molecular, queratinas luminales o de bajo peso molecular, P63 y EGFR) (54, 55) se pueden catalogar los carcinomas de mama en subtipos equivalentes a aquellos basados en perfiles de expresión génica. La ventaja del estudio IHQ es que usa marcadores que se encuentran disponibles en la mayoría de Servicio de Anatomía Patológica, facilitando y generalizando su uso.

Durante años, los factores pronósticos manejados, han estado en relación con los hallazgos histopatológicos (tipo histológico, grado histológico, grado nuclear, número de mitosis, índice de Bloom Richardson) y otros como tamaño

tumoral, afectación ganglionar, y receptores hormonales para estrógenos y progesterona. De todos ellos es reconocido que los de mayor significación pronóstica son el tamaño tumoral y la afectación axilar (55, 56).

La interpretación morfológica de las secciones histológicas forma la base de diagnóstico y pronóstico del cáncer. El sistema de gradación de Scarff-Bloom-Richardson (SBR), propuesto en 1957 para el cáncer de mama o el modificado de Nottingham son los más utilizados en todo el mundo. En un intento de determinar mejor el pronóstico en tumores mamarios se han estudiado otros factores relacionados con la biología tumoral y su posible relación con el comportamiento evolutivo de la enfermedad.(32, 57)

El concepto de grado histológico fue originalmente propuesto en 1925 por Greenough,(58) quien primero propuso cuantificar una combinación de formaciones tubulares (diferenciación celular), pleomorfismo nuclear e hipercromatismo nuclear (potencial proliferación) para estratificar el grado de malignidad. Estos sistemas evalúan las características de las células en el tejido mamario resecado por el cirujano, y determinan el grado de agresividad del tumor. Los tumores de menor grado (I-II) son de buen pronóstico y pueden tratarse en forma menos agresiva, con mejor tasa de supervivencia, y lo contrario para neoplasias de grado superior (III).(56)

Además, los recientes avances en biología molecular, proteómica y microarreglos han permitido identificar subtipos específicos de cáncer de mama con biología diferente, que en América Latina no han sido suficientemente estudiados.(12)

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea, con subtipos moleculares que varían en su etología. En su diagnóstico, para determinar el grado

histológico del tumor, los patólogos establecen un análisis semicuantitativo de las características morfológicas.

En el presente estudio nos proponemos determinar la Relación entre las Características Patológicas y el Grado Histológico del Cáncer de Mama con su Clasificación Molecular en la Región Lambayeque.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo general

Determinar si hay relación entre las características patológicas y el grado histológico del cáncer de mama con su clasificación molecular en pacientes del Departamento de Lambayeque.

1.1.2. Objetivos específicos

- Determinar la expresión de cuatro perfiles inmunohistoquímicos en pacientes con cáncer de mama.
- Determinar las características patológicas del cáncer de mama.
- Determinar el grado histológico del cáncer de mama.
- Comparar cada uno de los perfiles inmunohistoquímicos con las diferentes características histopatológicas del cáncer de mama.
- Comparar cada uno de los perfiles inmunohistoquímicos con las diferentes grados histológicos del cáncer de mama.

II. MATERIAL Y MÉTODOS.

II. MATERIAL Y MÉTODOS.

1. TIPO DE INVESTIGACION:

Se realizó una investigación de tipo cuantitativo, descriptivo, transversal, explicativo, retrospectivo-prospectivo

2. DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE HIPOTESIS:

Explicativo, analítico retrospectivo

3. POBLACION Y MUESTRA DE ESTUDIO

4.2.1 Población: La población es de 214 pacientes con Cáncer de Mama diagnosticadas por examen anatomopatológico, con estudio inmunohistoquímico de receptor de estrógeno, progesterona, Her 2 neu y Ki 67, en el Hospital Regional Lambayeque, Clínica del Pacífico, Hospital Privado Metropolitano, Clínica de Tumores y un Laboratorio Privado de Anatomía Patológica, del Departamento de Lambayeque durante los años 2013 al 2016.

4.2.2 Muestra: Al trabajarse con todos los casos diagnosticados durante el periodo de 2013 a 2016, se utilizó un muestreo no probabilístico con selección consecutiva, considerando los siguientes criterios de inclusión y exclusión

Criterios de Inclusión:

1. Pacientes que fueron sometidas a mastectomía radical, mastectomía radical modificada, mastectomía simple más disección ganglionar o tumorectomía más disección ganglionar, biopsia excisional o incisional, biopsia core y que tengan el diagnóstico histopatológico de Carcinoma de la mama.
2. Pacientes con Cáncer de mama infiltrante con estudio de Inmunohistoquímica para Receptores de estrógeno, progesterona, Cer-b-2 y Ki 67.

Criterios de Exclusión:

1. Pacientes a las que no se les realizó el examen anatomopatológico.

2. Pacientes en las que no fue posible obtener el material de patología para la realización del estudio.
3. Pacientes con diagnósticos relacionados con neoplasias malignas de origen mesenquimal o linfoide.

4. MATERIALES TECNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

1. Se obtuvieron los tacos de parafina correspondiente al carcinoma de cada una de las pacientes incluidas en el estudio.
2. Se procedió a realizar los cortes histológicos con un micrótopo de rotación, de un grosor entre 3 a 4 micras, dos por cada caso.
3. Los cortes fueron colocados en láminas sialinizadas para evitar el desprendimiento.
4. Se realizó la inmunotinción con el método de inmunoperoxidasa para determinar la presencia de Receptor de estrógeno, receptor de progesterona, Her-2-neu y Ki67.
5. Se realizó la interpretación de los diferentes marcadores y se determinó su clasificación molecular.
6. Se procedió a la lectura de las láminas y la interpretación a fin de determinar la positividad o negatividad de las muestras.
7. Se valoró el tipo histológico según la clasificación de la OMS para carcinomas de mama.
8. Se determinó el grado histológico según ELSTON AND ELLIS.

5. METODOS Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos se recolectaron en una ficha protocolo diseñada por el investigador (Anexo 1), en las que están contempladas el nombre del paciente, el número de la biopsia, tipo de muestra, datos epidemiológicos y variantes de estudio: Tipo histológico, grado

histológico, necrosis, invasión vascular, invasión perineural y resultado del estudio inmunohistoquímico.

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Para la confección de la base de datos Microsoft office Excel 2010. Se realizó un estudio descriptivo de las variables. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas con un valor de $p < 0.05$.

Para el análisis estadístico utilizamos el programa SPSS 23.0. Para analizar la diferencia estadística entre las características de ambos grupos etarios utilizamos las siguientes pruebas: Chi cuadrado, para el tipo histológico, receptores de estrógenos y progesterona, sobreexpresión de HER2 e índice proliferativo Ki-67; y U de Mann Whitney, para el grado histológico. El nivel de significancia estadística establecido fue $< 0,05$.

El estado de los receptores hormonales se determinó mediante la escala Allred, considerando “positivo” todo puntaje ≥ 3 puntos, según las recomendaciones de la Sociedad Americana de Oncología Clínica del 2010 (61)(Anexo 2 y 4).

La sobreexpresión de la proteína HER2 se consideró “positiva” si más del 10% de células tumorales tenían tinción completa y fuerte, de acuerdo a la guía de la Sociedad Americana de Oncología Clínica y el Colegio Americano de Patólogos del 2013 (62)(Anexo 3 y 4).

Finalmente, la expresión del antígeno Ki-67 en un porcentaje $\geq 14\%$ de células tumorales se consideró como “índice proliferativo alto”, de acuerdo al Consenso de St Gallen del 2011 (Anexo 4) (63)

Aspectos éticos

No se requirió de consentimiento informado para la recolección de datos, dado que nuestra fuente de información fue la base de datos del servicio de Anatomía Patológica del Hospital Regional Lambayeque, Clínica Pacifico, Hospital Privado Metropolitano y Clínica de Tumores Chiclayo. Sin embargo,

los datos personales de las pacientes y la información obtenida, se manejaron confidencialmente.

III. RESULTADOS.

III. RESULTADOS.

En el Hospital Regional Lambayeque, durante el período comprendido entre enero de 2013 y diciembre de 2016, se diagnosticaron 176 casos de carcinoma infiltrante de mama en pacientes de sexo femenino. Las mismas a las que se les realizó estudio inmunohistoquímico completo y no haber recibido neoadyuvancia. De igual forma 38 pacientes procedentes de las Clínica Pacífico, Hospital Privado Metropolitano y Clínica de Tumores fueron incluidas, pacientes con edades comprendidas entre 26 y 95 años. En total se incluyeron 214 casos.

TABLA N° 01. PACIENTES CON CANCER DE MAMA SEGÚN AÑO

| AÑO | N° casos | Porcentaje |
|------------|-----------------|-------------------|
| 2013 | 27 | 13.6 |
| 2014 | 51 | 23.0 |
| 2015 | 43 | 19.7 |
| 2016 | 93 | 43.7 |
| Total | 214 | 100 |

Fuente: Base de datos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Regional Lambayeque y Laboratorio de Anatomía Patológica de Clínica Pacífico, Hospital Privado Metropolitano y Clínica de Tumores -Chiclayo

En la Tabla N° 01 se aprecia que el número de pacientes se va incrementando año a año, considerando que este Hospital es nuevo y empieza a funcionar a partir del año 2012. De la población en estudio casi el 44 % corresponden al año 2016.

TABLA N° 02. FRECUENCIA RELATIVA DE TIPOS HISTOLÓGICOS

| Tipo Histológico | N° | % |
|-----------------------------------|------------|------------|
| Ductal infiltrante, NOS | 185 | 86,4 |
| Ductal infiltrante, papilar | 2 | 0.9 |
| Ductal infiltrante, mucinoso | 3 | 1.4 |
| Ductal infiltrante, medular | 1 | 1.5 |
| Ductal infiltrante, NOS+ mucinoso | 1 | 0.5 |
| Lobulillar infiltrante, clásico | 11 | 5.1 |
| Lobulillar infiltrante+ Ductal | 5 | 2.3 |
| Tubular | 2 | 0.9 |
| Ductal Infiltrante+ Apocrino | 1 | 0.5 |
| Metaplasico | 1 | 0.5 |
| Carcinosarcoma | 1 | 0.5 |
| Apocrino | 1 | 0.5 |
| Total | 214 | 100 |

*Significancia según la prueba Chi cuadrado.

La Tabla N° 02 muestra la frecuencia relativa de los tipos histológicos, entre los cuales no existe diferencia significativa. El tipo histológico predominante es el carcinoma ductal infiltrante de subtipo NOS, que se presenta de manera aislada (en el 86.4%) o asociado a otros subtipos infrecuentes.

El tipo histológico que sigue en frecuencia es el Carcinoma Lobulillar infiltrante de tipo clásico con un total de 11 casos, y 5 más asociado al Carcinoma Ductal.

TABLA N° 03: TIPO DE MUESTRA ESTUDIADA PARA DIAGNOSTICO

| Tipo de Muestra | N° | % |
|------------------------|------------|------------|
| Biopsia Core | 87 | 40.7 |
| Mastectomia | 69 | 32.2 |
| Tumorectomia | 41 | 19.2 |
| Cuadrantectomia | 14 | 6.5 |
| Biopsia Incisional | 3 | 1.4 |
| Total | 214 | 100 |

Fuente. Base de datos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Regional Lambayeque y Laboratorio de Anatomía Patológica de Clínica Pacífico, Hospital Privado Metropolitano y Clínica de Tumores -Chiclayo

El mayor porcentaje de los casos correspondieron a biopsias core y mastectomías, seguidos de las tumorectomias, lo que ha permitido evaluar las características histopatológicas en todos los casos, así también, hizo posible la realización de los estudios de inmunohistoquímica.

TABLA N° 04. FRECUENCIA DE LOS FACTORES PRONÓSTICOS CLÁSICOS: NECROSIS, GRADO HISTOLOGICO, INVASION VASCULAR E INVASION PERINEURAL.

| Factores pronósticos | | | N° | % |
|----------------------|-----------|-------|-----|------|
| Necrosis Tumoral | Presente | Casos | 49 | 22.9 |
| | Ausente | Casos | 165 | 77.1 |
| Grado Histológico | I | Casos | 13 | 6.1 |
| | II | Casos | 97 | 45.3 |
| | III | Casos | 82 | 38.3 |
| | No aplica | Casos | 22 | 10.3 |
| Invasión Vascular | Presente | Casos | 53 | 24.8 |
| | Ausente | Casos | 161 | 75.2 |
| Invasión Perineural | Presente | Casos | 26 | 12.1 |
| | Ausente | Casos | 188 | 87.9 |

Fuente. Base de datos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Regional Lambayeque y Laboratorio de Anatomía Patológica de Clínica Pacífico, Hospital Privado Metropolitano y Clínica de Tumores -Chiclayo

En la Tabla N° 04 se registran algunos factores pronósticos clásicos, como el grado histológico, necrosis tumoral, invasión vascular y perineural.

Al evaluar el grado histológico, encontramos que el grado II el más prevalente en el grupo (45.3%), seguido del grado III (38.3%).

En relación a la necrosis tumoral, invasión vascular y perineural se encuentra mayormente ausente, siendo el 24.8 % la mayor frecuencia en el caso de la invasión vascular.

TABLA N° 05. TIPO HISTOLOGICO SEGÚN CLASIFICACIÓN MOLECULAR

| Tipo Histológico | N° | Luminal A | Luminal B | Cer-b-2 | Basal |
|-------------------------------------|------------|------------------|------------------|----------------|--------------|
| Ductal infiltrante, NOS | 185 | 57 | 49 | 40 | 38 |
| Ductal infiltrante, papilar | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| Ductal infiltrante, mucinoso | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| Ductal infiltrante, medular | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Ductal infiltrante, NOS+ papilar | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ductal infiltrante, NOS+ mucinoso | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Ductal infiltrante, NOS+ cribiforme | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ductal infiltrante, NOS+ medular | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Lobulillar infiltrante, clásico | 11 | 5 | 3 | 3 | 0 |
| Lobulillar infiltrante+ Ductal | 5 | 2 | 3 | 0 | 0 |
| Tubular | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Ductal Infiltrante+ Apocrino | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Metaplasico | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Carcinosarcoma | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Apocrino | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Total | 214 | 68 | 58 | 45 | 43 |

Fuente. Base de datos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Regional Lambayeque y Laboratorio de Anatomía Patológica de Clínica Pacifico, Hospital Privado Metropolitano y Clínica de Tumores -Chiclayo

En la Tabla 5 se puede apreciar que para el tipo histológico Ductal infiltrante el 30% de los casos corresponden a el subtipo Luminal A y el Luminal B 26.5%, en conjunto el 56.5% muestran tendencia a estos subtipos. Con una diferencia estadísticamente

significativa $p < 0.05$, es mas evidente en el Carcinoma lobulillar clasico en donde cerca del 50% corresponden al Luminal A. y mas del 75% a Luminal A y B.

TABLA N° O6: GRADO HISTOLOGICO SEGÚN CLASIFICACIÓN MOLECULAR

| Grado Histológico | N° | Luminal A | Luminal B | Cer-b-2 | Basal |
|-------------------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| GRADO I | 13 | 2 | 5 | 5 | 1 |
| GRADO II | 97 | 32 | 29 | 17 | 19 |
| GRADO III | 82 | 25 | 19 | 19 | 19 |
| NO APLICA | 22 | 9 | 5 | 4 | 4 |
| Total | 214 | 68 | 58 | 45 | 43 |

Fuente. Base de datos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Regional Lambayeque y Laboratorio de Anatomía Patológica de Clínica Pacifico, Hospital Privado Metropolitano y Clínica de Tumores -Chiclayo

En la Tabla 6 se observa que el grupo basal tiene más del 88% entre grado II y III

TABLA N° O7: NECROSIS TUMORAL SEGÚN CLASIFICACIÓN MOLECULAR

| Necrosis | N° | Luminal A | Luminal B | Cer-b-2 | Basal |
|--------------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| PRESENTE | 49 | 10 | 8 | 8 | 23 |
| AUSENTE | 165 | 58 | 50 | 37 | 20 |
| Total | 214 | 68 | 58 | 45 | 43 |

Fuente. Base de datos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Regional Lambayeque y Laboratorio de Anatomía Patológica de Clínica Pacifico, Hospital Privado Metropolitano y Clínica de Tumores -Chiclayo

En la Tabla 7 se evidencia que el subgrupo basal presenta el mayor porcentaje de necrosis en el 53.5%, mientras que el luminal A presenta el 14.7% con un $p < 0.005$, estableciendo una diferencia estadísticamente significativa entre estos grupos.

TABLA N° 08: INVASION VASCULAR SEGÚN CLASIFICACIÓN MOLECULAR

| Invasión Vascular | N° | Luminal A | Luminal B | Cer-b-2 | Basal |
|--------------------------|------------|------------------|------------------|----------------|--------------|
| PRESENTE | 53 | 17 | 11 | 10 | 15 |
| AUSENTE | 161 | 51 | 47 | 35 | 28 |
| Total | 214 | 68 | 58 | 45 | 43 |

Fuente. Base de datos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Regional Lambayeque y Laboratorio de Anatomía Patológica de Clínica Pacífico, Hospital Privado Metropolitano y Clínica de Tumores -Chiclayo

En la tabla 8 se puede evidenciar que el 35% del grupo basal presenta invasión vascular, 25% en el Luminal A y casi el 20% del Luminal B con un $p < 0.005$, estableciendo una diferencia estadísticamente significativa entre estos grupos.

TABLA N° 09: INVASION PERINEURAL SEGÚN CLASIFICACIÓN MOLECULAR

| Invasión Perineural | N° | Luminal A | Luminal B | Cer-b-2 | Basal |
|----------------------------|------------|------------------|------------------|----------------|--------------|
| PRESENTE | 26 | 10 | 5 | 3 | 8 |
| AUSENTE | 188 | 58 | 53 | 42 | 35 |
| Total | 214 | 68 | 58 | 45 | 43 |

Fuente. Base de datos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Regional Lambayeque y Laboratorio de Anatomía Patológica de Clínica Pacífico, Hospital Privado Metropolitano y Clínica de Tumores -Chiclayo

En la tabla 9 se puede observar que existe una diferencia significativa entre el grupo basal 18.6% y los grupos luminal B y Cer-b-2 con 8.6 y 6.6 % respectivamente que tienen la menor frecuencia y un $p < 0.05$

IV. DISCUSIÓN.

IV. DISCUSIÓN.

En el presente estudio se corrobora una mayor prevalencia del carcinoma infiltrante de mama en el grupo con edad > 40 años. Este hallazgo se asemeja al estudio de Pinto, realizado en el hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo de Chiclayo, Essalud en 2011(59), donde los grupos etarios mayores de 40 años tuvieron, en conjunto, una prevalencia de 89,7%. A nivel mundial, existe mayor prevalencia del cáncer de mama en mujeres mayores de 40 años. Es necesario considerar que el comportamiento epidemiológico del cáncer de mama en las regiones de la costa norte del Perú es homogéneo.(2) En la Region Lambayeque ocupa el 2do lugar en frecuencia con un 10.5% (2)

El tipo histológico predominante es el carcinoma ductal infiltrante de subtipo NOS, tal como se describe en múltiples estudios a nivel mundial y nacional, realizados por Planelles y Pinto (59, 60).

El grado histológico predominante para todos los subtipos de la clasificación molecular son el II y III, en el caso del II corresponde el 47.3%, siendo este predominante en el subtipo Luminal B con el 50% de los casos. Este hallazgo concuerda con algunos trabajos, la diferencia entre lo reportado por otras series y nuestro estudio puede deberse a diferencias étnicas y raciales, el estadio de la enfermedad, al diagnóstico y los efectos de la variación inter-observador al aplicar el sistema Scarff- Bloom-Richardson.(57) Es importante señalar que el grado histológico es un factor pronóstico con un rol en la clasificación y estadificación del cáncer de mama.(7)

A partir de la introducción de la clasificación de subtipos intrínsecos de cáncer de mama comenzó a discutirse la significación pronóstica de varios subtipos y la positividad al subtipo HER2/neu se ha asociado con peor pronóstico y el luminal A con mejor. De los 214 casos que pudieron clasificarse por subtipo específico, el luminal A fue el más común (31.2%) y asociado con el grado histológico II en 47.06%, el subtipo triple negativo (basal) ocupó el cuarto lugar (20.09%), también asociado con pobre grado de diferenciación (44.19%). En

tercer lugar se obtuvo el subtipo HER2/neu (21%) el segundo lugar fue para luminal B (27.1%) ($p > 0.0001$). La información obtenida en España por Arrechea-Irigoyen y colaboradores (13), en 272 carcinomas de mama, reveló que el fenotipo predominante era el luminal A (62.5%), el doble que en nuestros casos, seguido de los tipos luminal B (18%) y en tercer lugar el subtipo HER2/neu (9.9%). En el estudio Taiwanes el triple negativo y el Her2/neu se asociaron con más cáncer de grado histológico III, con 56.6 y 44.3 % respectivamente (9), siendo nuestros resultados consistentes con este, aunque discretamente menos frecuente para el triple negativo.

En relación a la necrosis esta estuvo predominantemente en el grupo Basal (47%), de los casos positivos a ella, seguida del Luminal A (20.4%), mientras que la invasión vascular y perineural fue predominante en el Luminal A (65.4 y 38.6%) seguida del Basal (38.6 y 30.7%).

Finalmente, en nuestro estudio encontramos que el perfil inmunohistoquímico predominante corresponde a los subtipos Luminal A y B, tal como lo señalan los diferentes estudios con algunas variantes como el de Cheang y col. (40, 41, 42)

V. CONCLUSIONES.

V. CONCLUSIONES.

1. Existe un importante relación entre los diferentes subtipos moleculares, con las características patológicas, así como con el grado histológico y el significado pronóstico y tratamiento en las pacientes con carcinoma infiltrante de mama.
2. El perfil inmunohistoquímico predominante en nuestros casos fue el del tipo Luminal A, seguido del Luminal B, Cer-2-neu y Basal.
3. El tipo histológico predominante en nuestro estudio fue el del Ductal Infiltrante de tipo NOS, seguido del Lobulillar Infiltrante Clasico.
4. El Grado histológico predominante fue el II con un 47.3%.
5. En nuestro estudio la necrosis fue más frecuente en el subtipo Basal; mientras que la invasión vascular y perineural se encontró predominantemente en el subtipo Luminal A.
6. El Subtipo Luminal B mostro la mayor prevalencia para el grado histológico II en relación a los otros grupos. Los grados II y III predominaron en más del 85% para todos los subtipos.

VI. RECOMENDACIONES.

VI. RECOMENDACIONES.

1. Realizar de manera rutinaria los estudios de Inmunohistoquímica a fin de establecer el Perfil correspondiente a cada paciente.
2. Poner en ejecución el sistema de registro de cáncer de mama en los hospitales y Clínicas de Chiclayo.
3. Mantener un adecuado abastecimiento de insumos para el estudio inmunohistoquímico del cáncer de mama en Chiclayo.
4. Proponer estudios sobre la caracterización molecular del cáncer de mama en las diferentes instituciones de salud de Chiclayo.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- 1.- Martínez de Aragón MV, Llácer A. Mortalidad en España en 1994. Boletín Epidemiológico Semanal. 1997; 7: 57-68.
2. Ramos Muñoz WC, Venegas Ojeda DR, et al. ANALISIS DE LA SITUACION DEL CANCER EN EL PERÚ, 2013. MINISTERIO DE SALUD DEL PERÚ. Dirección General de Epidemiología.
- 3.- López-Abente Ortega G, Pollán Santamaría M, Ruiz Tovar M, Aragonés Sanz N. Mortalidad por cáncer en España. Año 1994. Boletín Epidemiológico Semanal. 1997; 18: 177-184
- 4.- I.N.E. Defunciones según la causa de muerte 1997. Madrid: Instituto Nacional de Estadística, 2000.
5. Imigo F, Mansilla E, Delama I, Poblete MT, Fonfach C. Clasificación molecular del cáncer de mama *Cuad. Cir.* 2011; 25: 67-74
6. 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
7. Rakha EA, et al.: Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast Cancer Research* 2010, 12:207.
8. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, et al. Prognostic Factors in Breast Cancer College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med.* 2000;124:966–978
9. Chen ST et al. Correlation of Histologic Grade With Other Clinico pathological Parameters, Intrinsic Subtype, and Patients' Clinical Outcome in Taiwanese Women *Jpn J Clin Oncol* 2011;41(12)1327–1335
10. Perou CM, Sørli T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA et al. Molecular portraits of human breast tumors. *Nature* 2000; 406: 747- 752.
11. Sørli T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003; 100: 8418-8423.
12. Ornelas-Aguirre JM, Pérez-Michel LMA Clasificación molecular del cáncer de mama: relación con las características clínico-patológicas y el grado histológico en mujeres del noroeste de México *Cir Cir* 2013;81:496-507.
13. M.A. Arrechea Irigoyen¹, F. Vicente García², A. Córdoba Iturriagagoitia³, B. Ibáñez Beroiz⁴, M. Santamaría Martínez³, F. Guillén Grima⁵ Subtipos moleculares del cáncer de mama: implicaciones pronósticas y características clínicas e inmunohistoquímicas *An. Sist. Sanit. Navar.* 2011; 34 (2): 219-233
14. Morozova O, Marra MA. From cytogenetics to next-generation sequencing technologies: advances in the detection of genome rearrangements in tumors. *Biochem Cell Biol* 2008; 86(2):81-91.
15. Gresham D, Dunham MJ, Botstein D. Comparing whole genomes using DNA microarrays. *Nat Rev Genet* 2008; 9(4):291-302.
16. Velculescu VE. Defining the blueprint of the cancer genome. *Carcinogenesis* 2008.
17. Wheeler DA, Srinivasan M, Egholm M, Shen Y, Chen L, McGuire A, et al. The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. *Nature* 2008; 452(7189):872-876.
18. Mardis ER. The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends Genet* 2008; 24(3):133-141.
19. Perou CM, Sørli T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406(6797):747-752.
20. Lonning PE, Sorlie T, Perou CM, Brown PO, Botstein D, Borresen-Dale AL. Microarrays in primary breast cancer--lessons from chemotherapy studies. *Endocr Relat Cancer* 2001; 8(3):259-263.

21. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, *et al.* Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(19):10869-10874.
22. van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, *et al.* Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002; 415(6871):530-536.
23. van de Vijver MJ, He YD, Van't Veer LJ, Dai H, Hart AA, Voskuil DW, *et al.* A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 347(25):1999-2009.
24. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, *et al.* Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005; 11(16):5678-5685.
25. Weigelt B, Glas AM, Wessels LF, Witteveen AT, Peterse JL, Van't Veer LJ. Gene expression profiles of primary breast tumors maintained in distant metastases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(26):15901-15905.
26. Weigelt B, Hu Z, He X, Livasy C, Carey LA, Ewend MG, *et al.* Molecular portraits and 70-gene prognosis signature are preserved throughout the metastatic process of breast cancer. *Cancer Res* 2005; 65(20):9155-9158.
27. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, *et al.* Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(14):8418-8423.
28. Chang HY, Nuyten DS, Sneddon JB, Hastie T, Tibshirani R, Sorlie T, *et al.* Robustness, scalability, and integration of a wound-response gene expression signature in predicting breast cancer survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(10):3738-3743.
29. Chang HY, Sneddon JB, Alizadeh AA, Sood R, West RB, Montgomery K, *et al.* Gene expression signature of fibroblast serum response predicts human cancer progression: similarities between tumors and wounds. *PLoS Biol* 2004; 2(2):E7.
30. Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M, *et al.* A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2004; 351(27):2817-2826.
31. Paik S, Tang G, Shak S, Kim C, Baker J, Kim W, *et al.* Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24(23):3726-3734.
32. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991;19(5):403-410.
33. Ross JS, Hatzis C, Symmans WF, Pusztai L, Hortobagyi GN. Commercialized multigene predictors of clinical outcome for breast cancer. *Oncologist* 2008; 13(5):477-493.
34. Quackenbush J. Microarray analysis and tumor classification. *N Engl J Med*. 2006; 354: 2463-72.
35. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA *et al.* Molecular portraits of human breast tumor. *Nature*. 2000;406:747-52.
36. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, *et al.* Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:10869-74.
37. Van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, Yudong DH, Hart AA, Mao M, *et al.* Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002; 415:530-536.

38. Van de Vijver MJ, He YD, Van't Veer LJ, Dai H, Hart AA, Voskuil DW, et al. A gene expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 347: 1999-2009.
39. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:8418-23.
40. Chean MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101:736-50.
41. McCafferty M, Healy N, Kerin M. Breast cancer subtypes and molecular biomarkers. *Diag Hist* 2009;15:485-9.
42. Ring AE, Smith IE, Ashely S, Fulford LG, Lakhani SR. Oestrogen receptor status, pathological complete response and prognosis in patients receiving neoadjuvant chemotherapy. *Br J Cancer* 2004; 91: 2012-7.
43. Soutirou C, Pusztai L. Gene expression signatures in breast cancer. *N Engl J Med* 2009;360: 790-800.
44. Schnitt S. Classification and prognosis of invasive breast cancer: from morphology to molecular taxonomy, Breast Long Course. *USCAP* 2009; 261.
45. Chin SF, Teschendorff AE, Marioni JC, Wang Y, Barbosa-Morais NL Thorne NP, et al. High-resolution aCGH and expression profiling identifies a novel genomic subtype of ER negative breast cancer. *Genome Biol* 2007; 8: R215.
46. Buyse M, Loi S, Van't Veer L, Viale G, Delorenzi M, Glas AM, et al. Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98: 1183-92.
47. Cardoso F, Van't Veer L, Rutgers E, Loi S, Mook S, Piccart-Gebhart MJ. Clinical application of the 70-gene profile: The MINDACT Trial. *J Clin Oncol* 2008: 729-35.
48. Bueno-de-Mesquita JM, van Harten WH, van 't Veer LJ, van Dam FS, Karsenberg K, Retel VP, et al. Use of 70-gene signature to predict prognosis of patients with node-negative breast cancer: a prospective community-based feasibility study (RASTER). *Lancet Oncol* 2007; 1079- 1087.
49. Drukker CA, Bueno-de-Mesquita JM, Retel VP, van Harten WH, van Tinteren H, Wesseling J, et al. A prospective evaluation of a breast cancer prognosis signature in the observational RASTER study. *Int J Cancer* 2013; 133: 929-936.
50. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol*. 2013;24(9):2206-2223
51. Aebi S, Davidson T, Gruber G, Cardoso F, ESMO Guidelines Working Group. Primary breast cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2011;
- 52: vi12-vi24. 22. Holt S, Bertelli G, Humphreys I, Valentine W, Durrai S, Pudney D, et al. A decision impact, decision conflict and economic assessment of routine Oncotype DX testing of 146 women with node-negative or pN1mi, ERpositive breast cancer in the U.K. *Br J Cancer*. 2013;108:2250-8.
53. Bartlett J, Bloom KJ, Piper T, Lawton TJ, Van de Velde C, Ross DT, et al. Mammostrat as an immunohistochemical multigene assay for prediction of early

- relapse risk in the tamoxifen versus exemestane adjuvant multicenter trial pathology study. *J Clin Oncol* 2012; 30: 4477- 84.
54. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004; 10: 5367- 74.
55. Burness ML, Grushko T, Olopade OI. Epidermal Growth Factor Receptor in triple-negative and basal-like breast cancer: promising clinical target or only a marker? *Cancer*. 2010; 16: 23-32.
56. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic Factors in Breast Cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med*. 2000;124(7):966-978.
57. Bloom HJG, Richardson WW. Histological Grading and Prognosis in Breast Cancer. A Study of 1409 Cases of which 359 have been Followed for 15 Years. *Br J Cancer*. 1957;11(3):359-377.
58. Greenough RB. Varying Degrees of Malignancy in Cancer of the Breast. *J. Cancer Res*. 1925;9:452-463.
- 59.- Pinto Larrea IE, Pinto Tipismana IR. Perfil epidemiológico, clínico y anatomopatológico del cáncer de mama en el hospital nacional Almanzor Aguinaga Asenjo enero-diciembre 2011. *Cuerpo Med HNAAA [Internet]*. 2013 [citado 8 de enero de 2018];6. Disponible en:
60. Planelles Asensio M. Inmunofenotipos de cáncer de mama en pacientes jóvenes (40 años o menores): Estudio de la expresión inmunohistoquímica de la vía IGFR1, PTEN/Akt/mTOR. [Tesis Doctoral]. España: Miguel Hernández; 2015.
61. Allred DC, Badve S, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Francis G, Goldstein NS, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28(16):2784-95.
62. Allison KH, Allred DC, Bartlett JMS, Dowsett M, Hammond MEH, Hicks DG, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2013;31(31):3997-4013.
63. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ. Strategies for subtypes—dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol*. 2011;22:1736–1747

ANEXOS

ANEXO N° 01

FICHA DE RECOLECCIÒN DE DATOS

[illegible]

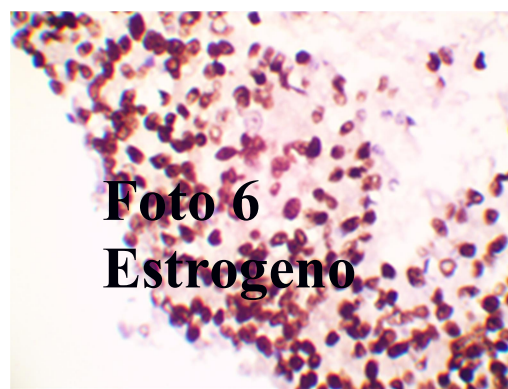
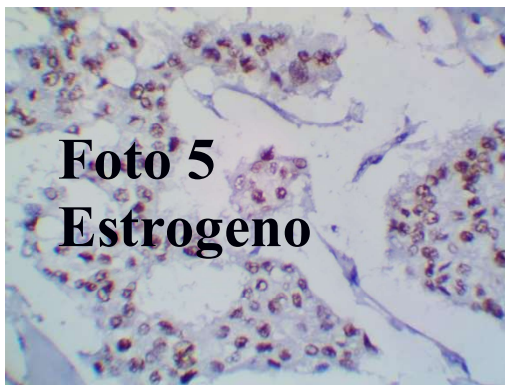
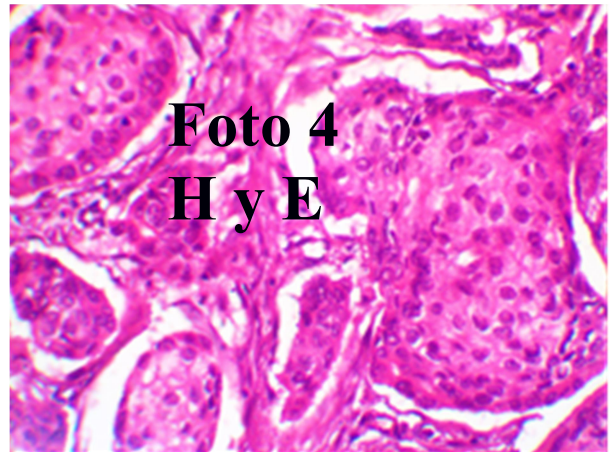
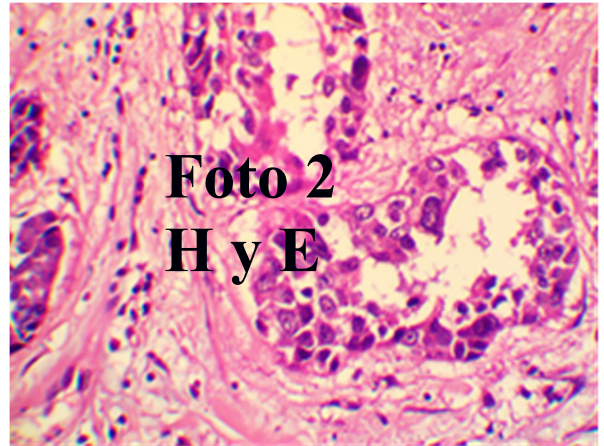
ANEXO 02

| ESCALA ALLRED | | | |
|---|--------------------|-------------------------------|------------|
| PUNTUACIÓN DE LA CELULARIDAD (PS) | %CÉLULAS POSITIVAS | INTENSIDAD DE LA TINCIÓN (IS) | |
| 0 | 0 | 0 | Ninguna |
| 1 | < 1% | 1 | Débil |
| 2 | 1% - 10% | 2 | Intermedia |
| 3 | 10% - 33% | 3 | Fuerte |
| 4 | 33% - 66% | | |
| 5 | >66% | | |
| TOTAL = PS + IS | | INTERPRETACIÓN | |
| 0,2 | | Negativo | |
| 3,4,5,6,7,8 | | Positivo | |
| Fuente: Lester SC. Special Studies. En: Manual of Surgical Pathology. 3.ªed. Elsevier Health Sciences; 2010. p. 86-9. | | | |

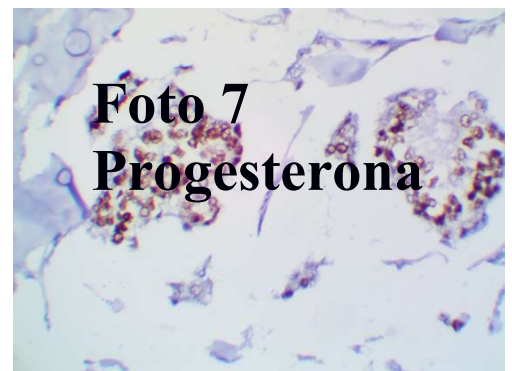
ANEXO N° 03

| INTERPRETACIÓN DEL HER2 POR INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ) E HIBRIDACIÓN IN SITU CON FLUORESCENCIA (FISH) | | | |
|--|---------|--|---|
| Interpretación | IHQ | | FISH ^a |
| | Puntaje | Descripción | |
| Negativo | 0 | No hay tinción Tinción muy débil e incompleta en <10% de células tumorales. | HER2/ CEP 17 < 2.0 + <4 copias/célula |
| | 1+ | Tinción incompleta y muy débil o inaparente en >10% de células tumorales. | |
| Dudoso/ equívoco | 2+ | Tinción incompleta o débil en >10% de células tumorales. Tinción intensa y completa en <10% de células tumorales. | HER2/ CEP 17 < 2.0 + ≥4.0 y < 6 copias/célula |
| Positivo | 3+ | Tinción uniforme, intensa y completa en >10% de células tumorales. | HER2/CEP17 ≥2.0 o ≥6 copias/célula |
| ^a Con la técnica FISH se calcula la razón entre número de copias de HER2 y la señal centromérica del cromosoma 17 (HER2/CEP17) | | | |
| Fuente. Adaptado de Allison KH, Allred DC, Bartlett JMS, Dowsett M, Hammond MEH, Hicks DG, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2013;31(31):3997-4013. | | | |

ANEXO N° 04



Fotos 1, 2, 3 y 4: **Tinción Hematoxilina-Eosina:**
Carcinomas infiltrantes de los conductos de tipo
NOS
Foto 5 y 6: **Immunotinción para Estrógenos:**
POSITIVO +++/+++ 60%
Foto 7: **Immunotinción para Progesterona:**
POSITIVO +++/+++ 50%



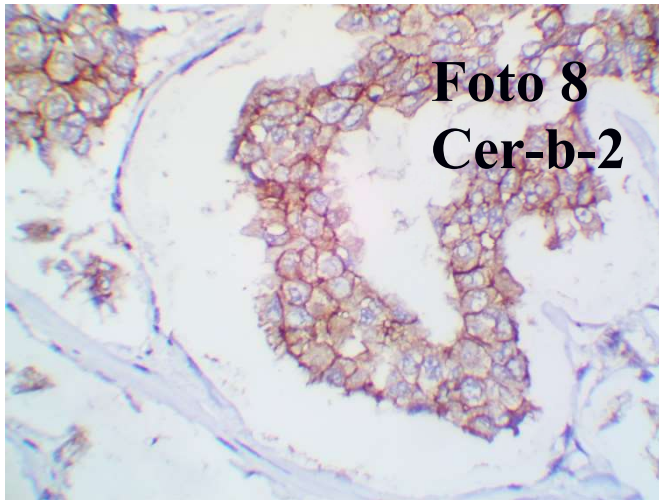


Foto 8
Cer-b-2

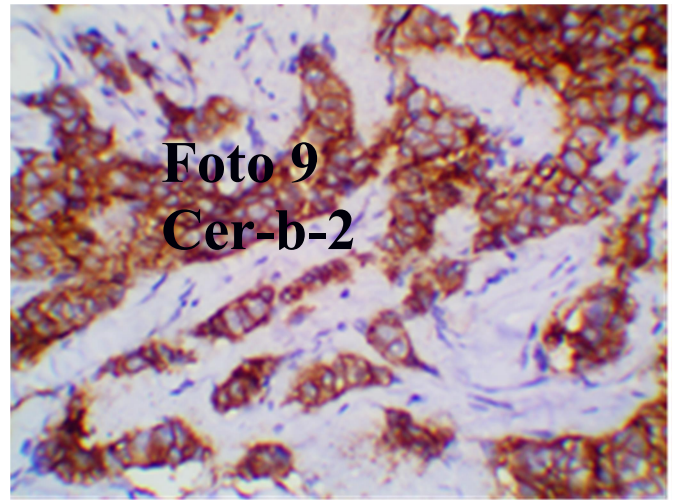


Foto 9
Cer-b-2

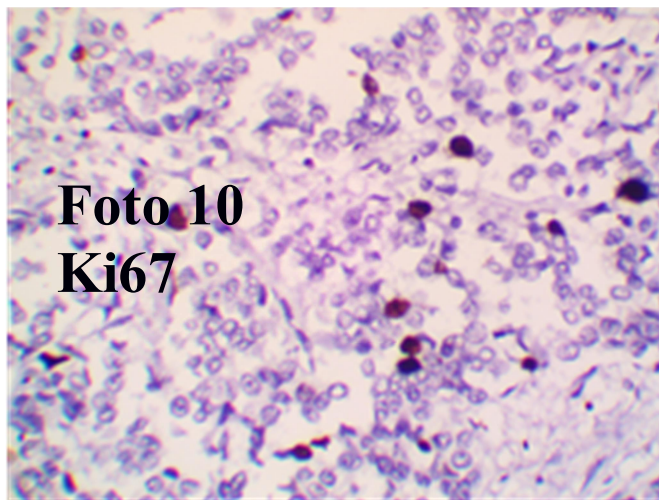


Foto 10
Ki67

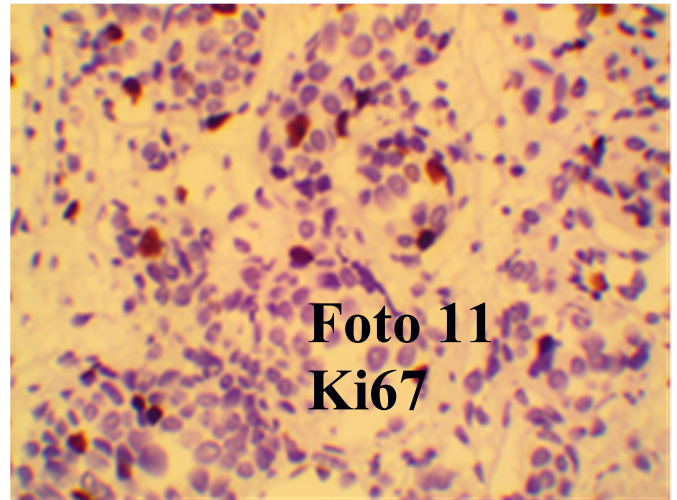


Foto 11
Ki67

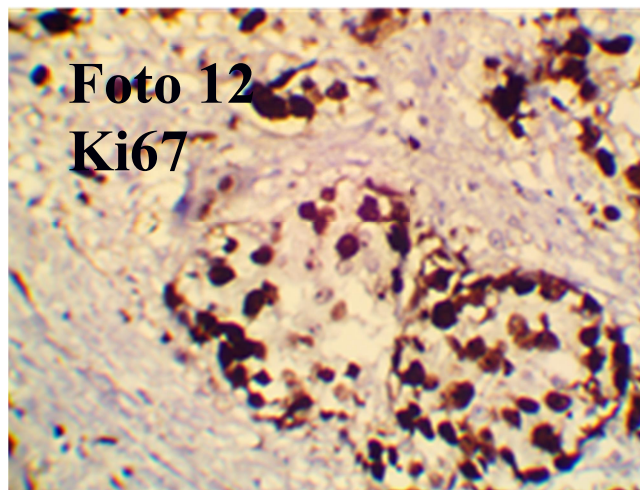


Foto 12
Ki67

Foto 8: Inmunotincion para Cer-b-2 (Her-2-neu) Dudoso
(sobrexpresion ++/+++)

Foto 9: Inmunotincion para Cer-b-2 (Her-2-neu) Positivo
(Sobrexpresion +++/+++)

Foto 10: Inmunotinción para Ki 67: POSITIVO > 5%

Foto 11: Inmunotinción para Ki 67: POSITIVO 15%

Foto 12: Inmunotinción para Ki 67: POSITIVO 50%