



*Aportes de la inmunohistoquímica y biología molecular al tratamiento y pronóstico de los pacientes con cáncer de mama*

Bres Luis Giacchero, Noelia Silva, Alejandra Sosa, Pamela Stoletniy

Tutora: Prof. Adj. Dra: Julia Bernachin

Grupo 77

Departamento a cargo: Cátedra de Anatomía Patológica Unibim; Banco de Tumores. Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela, UDELAR.

## INDICE DE CONTENIDO

-RESUMEN.....	3
-FUNDAMENTACIÓN DE LA PROPUESTA. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y/O TRABAJO DE PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	3
-INTRODUCCION: MARCO TEORICO DEL TEMA DE INVESTIGACIÓN.....	4
-OBJETIVO GENERAL Y ESPECIFICOS.....	12
-METODOLOGIA.....	13
-RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN O DATOS OBTENIDOS.....	13
-CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	23
-REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	24
-AGRADECIMIENTOS.....	29
-ANEXOS.....	30

## **RESUMEN**

El cáncer de mama es la principal causa de muerte de mujeres en nuestro país, y es objeto de investigación activa en todo el mundo. El diagnóstico actual es realizado por la morfología y por técnicas moleculares como la inmunohistoquímica y técnicas de hibridación de ADN tales como el FISH (hibridación in situ fluorescente) y CISH (hibridación in situ cromogénica). A este diagnóstico se brinda un diagnóstico que se encuentra estandarizado en un protocolo universal denominado Clasificación Molecular. Los tumores de mama son heterogéneos en su agresividad biológica, respuesta al tratamiento y el pronóstico. En América Latina, los años de vida saludable (AVISA) perdidos debidos al Cáncer de mama ascienden a 615 000, lo cual representa 1.4% del total de AVISA por todas las causas y una tasa de 221 por 100 000 mujeres. En contraste, en Estados Unidos y Canadá se pierden 673 000 AVISA (3% del total y una tasa de 410 por 100 000 mujeres). (1)

En América Latina y el Caribe casi 300 000 mujeres mueren anualmente por esta enfermedad. Es de máxima incidencia en EEUU, en cambio en Uruguay, Brasil, Argentina, Canadá, Puerto Rico y Colombia es de mediana incidencia, siendo de baja incidencia en Costa Rica, Perú y Ecuador. Los países que tiene una mortalidad anual por 10000 mujeres son mayores en Uruguay, Trinidad y Tobago, Canadá, Argentina, EEUU. (2)

## **FUNDAMENTACIÓN DE LA PROPUESTA. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y/O TRABAJO DE PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

El cáncer de mama es una de las enfermedades malignas más frecuentes en la mujer, la cual amenaza su vida, con casi 800 nuevos casos al año por cada 100.000 mujeres. (1)

Los marcadores pronósticos que hasta el día de hoy se usan, son indicadores insuficientes de agresividad tumoral y no discriminan entre los diferentes resultados clínicos y biológicos. Por lo que se necesitan rápidamente nuevos indicadores. Las proteínas juegan un rol fundamental en el cáncer de mama, en

la diferenciación, invasión y / o metástasis, pudiendo influir en el progreso biológico de los tumores, y por lo tanto podrían proporcionar información pronóstica; por lo que consideramos esencial, la búsqueda de nuevos marcadores inmunohistoquímicos para valorar el tratamiento y pronóstico, y así mejorar la sobrevida de nuestras pacientes. Cabe destacar que también se encuentra en el sexo masculino, con mucha menor frecuencia. (3)

El estudio de la expresión tumoral del receptor del factor de crecimiento epidérmico-2 (HER2), el receptor de estrógenos (RE) y el receptor de progesterona (RP) permite reconocer subtipos con diferentes características clínico-patológicas y evolutivas. (4)

## **INTRODUCCIÓN: MARCO TEÓRICO DEL TEMA DE INVESTIGACIÓN**

El cáncer de mama es el cáncer más frecuente en las mujeres tanto en los países desarrollados como en los países en desarrollo. La incidencia de cáncer de mama está aumentando en el mundo en desarrollo debido a la mayor esperanza de vida, el aumento de la urbanización y la adopción de modos de vida occidentales. Según datos de la Lucha Honoraria contra el Cáncer en las mujeres uruguayas, en el período del 2006 al 2010 el cáncer de mama ha ocupado el primer lugar en incidencia (73,99%), y también en mortalidad (22,13%). Según la tasa específica por la edad el punto de mayor incidencia está aproximadamente a los 80 años (350 casos cada 100000 habitantes), al igual que en la mortalidad (casi 300 casos cada 100000 habitantes)

Aunque reducen en cierta medida el riesgo, las estrategias de prevención no pueden eliminar la mayoría de los casos de cáncer de mama que se dan en los países de ingresos bajos y medios, donde el diagnóstico del problema se hace en fases muy avanzadas. Así pues, la detección precoz con vistas a mejorar el pronóstico y la supervivencia de esos casos sigue siendo la piedra angular del control del cáncer de mama.

La OMS promueve el control del cáncer de mama en el marco de los programas nacionales de lucha contra el cáncer, integrándolo en la prevención

y el control de las enfermedades no transmisibles. Las lesiones de mama femeninas son mucho más frecuentes que las de mama masculina. Estas lesiones suelen tomar la forma de nódulos o masas palpables, a veces dolorosas. Entre los factores de riesgo de padecer dicha enfermedad encontramos que hay diferencias entre la incidencia y tasas de mortalidad en diferentes países. Con respecto a la edad se ha visto que es raro en menores de 30 años, luego el riesgo aumenta de forma mantenida, pero luego de la menopausia aumenta mucho más. En relación con la genética y los antecedentes familiares, entre el 5 y el 10% están relacionados con mutaciones hereditarias específicas. Casi la mitad de las mujeres con cáncer de mama tienen mutaciones del gen BRCA1 Y un tercio más tienen mutaciones en el BRCA2. Actúan como genes supresores de tumor, ya que el cáncer se produce cuando ambos alelos son inactivos o defectuosos. La exposición prolongada a estrógenos exógenos en la posmenopausia conocida como tratamiento de sustitución hormonal se asocia a riesgo de cáncer de mama, diagnóstico en estadios más avanzados y mamografías anormales. Se ha sospechado que los anticonceptivos orales aumentan el riesgo, pero las pruebas son contradictorias y las nuevas formulaciones con bajas concentraciones de estrógenos y gestágenos parecen ser seguras. Las radiaciones ionizantes del tórax aumentan el riesgo, la magnitud del riesgo depende de la dosis de radiación, del tiempo de exposición y de la edad. La causa sigue siendo desconocida, sin embargo se han visto que influyen 3 factores; los cambios genéticos, lo hormonal y lo ambiental. Con respecto a los cambios genéticos entre los mejores caracterizados están la sobreexpresión de HER2/NEU, que está amplificado en hasta el 30% de los cánceres de mama invasivos. Su sobreexpresión se asocia con mal pronóstico. Además, se ha publicado la amplificación de los genes RAS y MYC, y también se pueden presentar mutaciones en genes supresores de tumor como el RB p53.

En cuanto a las influencias hormonales, claramente el exceso de estrógenos endógenos tiene una influencia importante. Las variables ambientales son sugeridas por la incidencia variable de cáncer en grupos homogéneos genéticamente y por las diferencias geográficas de prevalencia. En cuanto a la

morfología, este cáncer afecta más a la mama izquierda. En cuanto a la localización dentro de la mama el cuadrante supero externo es el más afectado (50%), luego es la parte central (20%), los cuadrantes inferoexterno, superointerno e inferointerno se afectan en un 10% de las veces cada uno.

## ANATOMÍA PATOLÓGICA

Los *cambios fibroquísticos* son cambios que van desde inocuos a patrones asociados con un mayor riesgo de cáncer de mama. Se acepta ampliamente que esta gama de cambios es la consecuencia de una exageración y distorsión de los cambios mamarios cíclicos que se producen normalmente en el ciclo menstrual. De manera arbitraria, estos cambios se dividen en patrones proliferativos y no proliferativos. Los *cambios no proliferativos* son los más frecuentes. Se caracterizan por un aumento del estroma fibroso con dilatación de los conductos y formación de quistes de varios tamaños. Macroscópicamente puede formarse un sólo quiste grande en una mama, pero este trastorno suele ser multifocal y bilateral. Las zonas afectadas muestran un aumento difuso y mal definido de la densidad y nodularidades discretas. Los quistes, sin abrir son de color marrón azulados y están llenos de líquido seroso y turbio. Frecuentemente los quistes están revestidos por células poligonales grandes que tienen un citoplasma abundante, granular, eosinófilo, con núcleos pequeños, redondos, hipercromáticos, la llamada metaplasia apócrina, que casi siempre es benigna. Dentro de los *cambios proliferativos* encontramos a la hiperplasia epitelial, algunas son leves y ordenadas, y tienen poco riesgo de evolucionar hacia carcinoma, pero en el otro extremo se encuentran las hiperplasias atípicas, que tienen un riesgo mayor, en proporción con la intensidad y atipia de los cambios. La hiperplasia epitelial no causa por sí misma una masa mamaria definida. El aspecto macroscópico no es distintivo y está dominado por los cambios fibrosos o quísticos coexistentes. Microscópicamente hay espectro casi infinito de alteraciones proliferativas. Los conductos, conductillos o lobulillos pueden estar llenos de células cuboideas ordenadas, dentro de las cuales se pueden distinguir pequeños patrones glandulares (fenestraciones). El grado de hiperplasia, manifestado en parte por el número de capas de proliferación epitelial intraductal, puede ser leve,

moderado o grave. En algunos casos las células hiperplásicas se vuelven monomorfas con complejos patrones arquitectónicos. Estos cambios se acercan a los del carcinoma ductal in situ (hiperplasia atípica). La hiperplasia lobulillar atípica se parece citológicamente al carcinoma lobulillar in situ, pero las células no llenan ni distienden más del 50% de los acinos de un lobulillo. Se asocia con un aumento del riesgo de carcinoma invasor. *La adenosis esclerosante* es menos frecuente que los quistes y la hiperplasia pero es importante por sus características clínicas y morfológicas que pueden ser similares a las del carcinoma, y a veces puede ser difícil de distinguir de este. Pero sólo se asocia con un mínimo de aumento del riesgo de progresión a carcinoma. Estas lesiones contienen fibrosis intralobulillar marcada y proliferación de los pequeños conductillos y acinos. Macroscópicamente la lesión tiene consistencia dura, similar a la del cáncer de mama. Microscópicamente la adenosis esclerosante se caracteriza por la proliferación de células epiteliales de revestimiento y de células mioepiteliales de los conductos pequeños y de los conductillos, que producen masas de patrones glandulares pequeños dentro de un estroma fibroso. Los conglomerados de glándulas o de conductillos proliferativos pueden estar prácticamente adosados, estando capas de células únicas o múltiples en conducto una con otra.

Con respecto a la *relación de los cambios fibroquísticos con el carcinoma de mama* aunque clínicamente algunas características del cambio fibroquístico tienden a distinguirlo del cáncer, la única forma cierta de establecer la diferencia en el diagnóstico es por biopsia y estudio histológico. Las *inflamaciones* son raras y durante las etapas agudas suelen producir dolor y sensibilidad en las áreas afectadas, dentro de este grupo se encuentran las mastitis y las necrosis grasa traumática, de las cuales ninguna se asocia con aumento del riesgo de cáncer. Los *tumores mamarios* son las lesiones más importantes de la mama femenina. El fibroadenoma es la neoplasia benigna más frecuente de la mama femenina. Se cree que un aumento absoluto o relativo de la actividad estrogénica influye en su aparición. Suelen aparecer en mujeres jóvenes, con una incidencia máxima en la tercera década de la vida.

Pueden aumentar de tamaño al final del ciclo menstrual y durante el embarazo. Después de la menopausia pueden regresar y calcificarse. Morfológicamente se presenta como un nódulo definido, habitualmente solitario, móvil de 1 a 10 cm de diámetro, es raro encontrar tumores múltiples y mayores de 10 cms. Macroscópicamente son firmes de color blanco. Histológicamente hay un estroma fibroelástico laxo que contiene espacios del tipo de conductos, tapizados por epitelio de varias formas y tamaños. El fibroadenoma puede ser pericanalicular o intracanalicular.

Los tumores filoides son mucho menos frecuentes que los fibroadenomas y se cree que se originan en el estroma periductal y no en fibroadenomas preexistentes. En cuanto al tamaño, pueden ser pequeños, pero la mayoría crecen hasta un tamaño grande, masivo que distiende la mama. Se pueden hacer lobulados y quísticos. Macroscópicamente presentan grietas y hendiduras. La aparición de un aumento de la celularidad del estroma, con anaplasia y elevada actividad mitótica, con un rápido aumento del tamaño indica malignidad. La mayoría permanecen localizados y se curan con la escisión.

El papiloma intraductal es un crecimiento neoplásico papilar en un conducto, la mayoría son lesiones solitarias y se localizan en los conductos o en los senos galactóforos principales.

#### CLASIFICACIÓN (OMS)

-No invasores cuando no han penetrado la membrana basal limitante:

- Carcinoma ductal in situ
- Carcinoma lobulillar in situ

-Invasores (infiltrantes):

- Carcinoma ductal invasivo (más frecuente)
- Carcinoma lobulillar invasivo
- Carcinoma medular
- Carcinoma coloide o mucinoso
- Carcinoma tubular
- Otros tipos

Hay dos tipos de carcinoma de mama no invasivo, el carcinoma ductal in situ (CDIS) y el carcinoma lobulillar in situ (CLIS), según estudios se ha demostrado que ambos suelen originarse en el conducto terminal de la unidad lobulillar. El CDIS tiende a llenar, distorsionar y desplegar los lobulillos afectados. Tiene una amplia gama de aspectos histológicos. Los patrones arquitectónicos están mezclados a menudo e incluyen tipos sólidos, comedo, cribiforme, papilar, micropapilar y clinging. La necrosis puede estar presente en cualquiera de estos. El comedo es inconfundible y se caracteriza por células de alto grado nuclear que distienden espacios con necrosis central. Las calcificaciones se asocian frecuentemente al CDIS. Las células de los tumores mejor diferenciados expresan receptores de estrógenos y, con menor frecuencia, de progesterona. El pronóstico del CDIS es excelente con una supervivencia superior al 97% tras mastectomía simple. El tratamiento con tamoxifeno puede reducir el riesgo de recidiva. La enfermedad de Paget del pezón está causada por la extensión de un CDIS por los conductos galactóforos y a la piel contigua del pezón. Las células malignas rompen la barrera epidérmica normal, lo que permite que el líquido extracelular sea secretado a la superficie. El aspecto clínico suele ser el de un exudado calostro sobre el pezón y la piel de la areola. En casi la mitad de los casos estará presente un carcinoma invasor subyacente. El CLIS tiene un aspecto uniforme. Las células son monomorfas, con núcleos blandos, redondeados y se presentan acumuladas laxamente cohesivos en conductos y lobulillos. El CLIS es casi siempre un hallazgo incidental, y a diferencia del CDIS no forma masas y sólo raramente se asocia a calcificaciones. Los carcinomas invasores posteriores aparecen en cualquiera de las mamas con una frecuencia significativa. Por lo tanto el CLIS es tanto un marcador de aumento del riesgo de presentar cáncer en cualquiera de las mamas como un precursor directo de algunos cánceres.

El carcinoma ductal invasor es un término usado para todos los carcinomas que no pueden ser subclasificados en uno de los tipos especializados, y no indica que este se origine específicamente en el sistema ductal. La mayoría de los cánceres (70-80%) caen en este grupo. Suele estar asociado con el CDIS.

La mayoría de los carcinomas ductales produce una respuesta desmoplásica que sustituye la grasa mamaria normal y forma una masa dura, palpable. El aspecto microscópico es bastante heterogéneo. Los bordes suelen ser irregulares. Los cánceres avanzados pueden causar hoyuelos en la piel, retracción del pezón o fijación a la pared torácica.

El carcinoma inflamatorio está definido por la presentación clínica de una mama aumentada de tamaño, tumefacta eritematosa, generalmente sin masa palpable. El carcinoma subyacente suele ser mal diferenciado e invade el parénquima de forma difusa, la mayoría tienen metástasis a distancia y el pronóstico es muy malo.

El carcinoma lobulillar invasor consta de células morfológicamente idénticas a las del CLIS. Dos tercios se asocian a CLIS adyacentes. Las células invaden el estroma individualmente y se alinean en hileras o cadenas. Aunque en la mayoría de los casos se presentan como masas palpables o densidades mamográficas un importante subgrupo puede tener un patrón difusamente invasor sin respuesta desmoplásica y puede estar clínicamente oculto. Con mayor frecuencia metastatizan a LCR, superficies serosas, tubo digestivo, ovario, útero y médula ósea. Suelen ser multicéntricos y bilaterales.

El carcinoma medular es un raro subtipo comprende menos del 1% de los casos. Constan de láminas de grandes células anaplásicas con bordes expansivos bien circunscritos. Clínicamente pueden ser confundidos con fibroadenomas. Se dan con mayor frecuencia en mujeres con mutación del BCRA1 aunque la mayoría de las mujeres con carcinoma medular no son portadoras.

El carcinoma coloide es un subtipo raro. Las células tumorales producen abundantes cantidades de mucina extracelular que disecciona el estroma circundante. Suelen ser blandos y gelatinosos.

Los carcinomas tubulares se presentan raramente como masas palpables pero representan el 20% de los carcinomas invasores menores de 1 cm que se

descubren en la mamografía. Las metástasis a ganglios linfáticos son raras y el pronóstico es excelente.

Hay algunas características que son comunes a todos los cánceres invasores tendencia a adherirse a los músculos pectorales o a la fascia profunda de la pared torácica con la fijación de la lesión, así como la adherencia a la piel que lo recubre con retracción o formación de hoyuelos de la piel o el pezón. La afectación de las vías linfáticas puede producir linfedema localizado.

La extensión del cáncer se produce por los canales linfáticos y hematógenos. Hay metástasis a los ganglios linfáticos en alrededor del 40% de los cánceres que se descubre como masas palpables pero en menos del 15% de los que se descubren por mamografía. Las lesiones en los cuadrantes externos y centralmente suelen extenderse primero a los ganglios axilares. Las situadas en los cuadrantes internos afectan normalmente a los ganglios que se encuentran a lo largo de las arterias mamarias internas. A veces los ganglios supraclaviculares son el primer sitio al que se extienden. A la larga se produce diseminación más distante, las localizaciones preferidas son los pulmones, el esqueleto, el hígado, las suprarrenales y menos frecuente el cerebro, bazo e hipófisis. Las metástasis pueden aparecer muchos años después del aparente control terapéutico de la lesión primaria.

En el pronóstico influyen las siguientes variables:

- Tamaño del carcinoma primario: los carcinomas invasores menores de 1 cm tienen pronóstico excelente en ausencia de metástasis a los ganglios linfáticos y pueden no necesitar tratamiento sistémico.
- Afectación de los ganglios linfáticos y número de ganglios axilares. Sin afectación de los ganglios axilares la supervivencia a los 5 años se acerca al 90%. La tasa de supervivencia disminuye con cada ganglio afectado.
- Metástasis a distancia: los pacientes que presentan extensión hematógena raramente se curan, aunque la quimioterapia puede prolongar la supervivencia.
- Grado de carcinoma, el sistema de gradación más habitual de cáncer de mama evalúa la formación de túbulos, el grado nuclear y la actividad mitótica para dividir a los carcinomas en tres grupos. Los bien diferenciados tienen un

mejor pronóstico en comparación con los mal diferenciados. Los moderadamente diferenciados tienen inicialmente, un mejor pronóstico, pero la supervivencia a los 20 años se aproxima a los mal diferenciados.

-Tipo histológico del carcinoma. Todos los tipos especializados de carcinoma de mama tienen un pronóstico algo mejor que los carcinomas que no son de ningún tipo especial.

-Presencia o ausencia de receptores de estrógenos y de progesterona. La presencia de receptores hormonales confiere un pronóstico ligeramente mejor. El motivo para determinar su presencia es proporcionar la respuesta al tratamiento. La tasa más elevada de respuesta al tratamiento antiestrogénico se observa en mujeres cuyos tumores tienen receptores de estrógenos y progesterona.

-Ritmo de proliferación del cáncer. Se puede medir la proliferación mediante el recuento de mitosis, citometría de flujo o marcadores inmunohistoquímica de proteínas del ciclo celular. Ritmos de proliferación elevados se asocian con un peor pronóstico.

- Aneuploidía. Los carcinomas con contenido anómalo de ADN tienen un pronóstico peor en comparación con carcinomas que tiene el ADN similar al de las células normales.

-Sobreexpresión de HER2/NEU, esto se produce casi siempre por la amplificación del gen, por lo tanto se puede determinar la sobreexpresión por inmunohistoquímica o por hibridación in situ con fluorescencia. La sobreexpresión se asocia a peor pronóstico. (5)

## **OBJETIVO GENERAL**

Correlacionar las distintas clasificaciones moleculares del cáncer de mama y establecer las implicancias terapéuticas y pronósticas de las mismas.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar los distintos tipos de marcadores, su naturaleza e importancia diagnóstica.
- Correlacionar los diferentes marcadores para el establecimiento de la clasificación fenotípica.
- Informarnos acerca de la prevalencia de esta enfermedad.
- Conocer cuáles son los nuevos avances en el área de la biología molecular.

## **METODOLOGÍA**

Para poder conocer los diferentes subtipos de cáncer de mama, recurrimos a realizar una revisión sistemática, basándonos en palabras claves como “subtipos de cáncer de mama”, “biomarcadores moleculares del cáncer de mama” y a su vez buscamos artículos con cada subtipo por separado; en buscadores ya conocidos como el portal Timbó y PubMed. Realizamos una revisión del tema leyendo libros reconocidos y recomendados. Luego comenzamos a leer los resúmenes de cada artículo, para clasificar los que realmente nos interesaban, ya que existían artículos que si bien nos hablaban del tema que nos interesaba buscar, no se relacionaban con nuestros objetivos, tal como nos habíamos planteado con anterioridad.

Así llegamos a los artículos de interés, con los que logramos desarrollar esta monografía.

## **RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN O DATOS OBTENIDOS**

Diversos estudios epidemiológicos y con parejas de gemelos monocigóticos nos advierten de la importancia de la genética en la susceptibilidad para padecer el cáncer de mama. Inicialmente se descubrieron los genes BRCA1 y BRCA2, como genes que aumentaban el riesgo de padecerlo. A su vez se identificaron otros como el TP53 y el PTEN. Con todos estos datos solamente se puede predecir el 30% de todos los casos. Lo que nos obliga a buscar la

causa del 70% restante, para tratar de curar a la mayor parte de la población afectada. (6)

Se han encontrado un conjunto de perfiles de expresión del genoma, que ha definido al cáncer de mama en distintos subtipos moleculares, que difieren en su evolución y respuesta al tratamiento sistémico del paciente. Estos artículos tratan de proponer que la investigación de marcadores moleculares identificará subtipos en el momento del diagnóstico primario, y esto ayudara con el tratamiento individualizado del paciente y dirigido fármaco.

Existen diferentes plataformas de microarreglos para definir los diferentes perfiles de riesgo:

- 1- Modelo de progresión basado en 70 genes (MammaPrint)
  - 2- Modelo de respuesta a heridas
  - 3- Puntaje de recurrencia (OncotypeDX)
  - 4- Modelo de subtipos intrínsecos (luminal A y B, Her2/neu, basal, parecido al normal)
  - 5- Modelo de tasa de expresión de dos genes(HOXB13 e IL17BR)
- (6)

Los resultados indican que la mayoría de los modelos presentan niveles altos de concordancia.

Ya existen varios factores clínicos, histopatológicos y moleculares validados que se utilizan habitualmente como marcadores pronósticos y predictivos del cáncer de mama. Éstos son por ejemplo: la edad del paciente, el grado tumoral, tamaño del tumor, los ganglios linfáticos y la presencia de metástasis, el tipo histológico y el estado de los receptores hormonales (receptor de estrógeno (ER) y del receptor de progesterona (PR)). Más recientemente, el factor de crecimiento epidérmico humano receptor 2 (HER2/neu) y la invasión peritumoral vascular (VPI) se han incluido como marcadores de rutina. (7)

Como sabemos, el cáncer de mama se divide en tumores positivos y negativos según si tiene o no los receptores de la hormona. Esto impulsó al manejo de la paciente en el uso de terapias endócrinas que directa o indirectamente eran dirigidas al receptor de la hormona, tales como moduladores del receptor de estrógeno selectivo (SERM), por ejemplo, tamoxifeno, raloxifeno, inhibidores de

la aromatasa; y "puros" análogos de estradiol como fulvestrant. El uso generalizado de estos agentes en el tratamiento adyuvante ha prolongado la supervivencia global y ha reducido la incidencia de cáncer de mama contralateral. A pesar de ello, hasta la mitad de todos los receptores de la hormona del cáncer de mama positivo no responden al tratamiento endócrino en la presentación inicial (resistencia intrínseca) o hay un desarrollo inevitable de la resistencia a lo largo del tiempo (resistencia adquirida). En cuanto a su capacidad de predicción clínica en muestras individuales. (7)

En parte, esta monografía se ha centrado en la identificación de posibles marcadores pronósticos y predictivos que faciliten un enfoque de tratamiento más individualizado para pacientes con cáncer de mama.

#### Los subtipos intrínsecos del cáncer de mama

En estos últimos años, el análisis de la expresión génica, ha dividido al cáncer de mama en al menos cinco grupos principales o subtipos: luminal A, luminal B, sobreexpresión de HER2/neu, tipo basal y el subtipo de tumor de mama normal según lo definido por su similitud en la expresión con el tejido normal y los tumores benignos. (7)

Estos subtipos difieren en términos de: resultados de los pacientes, la supervivencia general y libre de la enfermedad, el pronóstico, la respuesta al tratamiento y la raza o el origen étnico. Esto sugiere que el cáncer de mama no es una sola entidad, sino, una colección de enfermedades heterogéneas que se manifiestan por las diferencias en el nivel molecular, histopatológica y clínica. Sin embargo, el perfil genético es costoso y difícil de conseguir en el ámbito clínico. Como resultado, varios estudios han investigado el papel de los paneles de inmunohistoquímica (IHC), marcadores que rutinariamente se podrían utilizar para clasificar los cánceres de mama en subtipos similares a los definidos anteriormente utilizando el análisis de la expresión génica. Hasta la fecha no existe un consenso sobre cuál es el panel más apropiado de marcadores para su uso. Por lo tanto, muchos investigadores utilizan una clasificación simple basada en expresiones de IHC ER, PR y receptores HER2/neu. (7). En nuestro país se realizó un estudio con el objetivo de determinar la frecuencia de los subtipos de cáncer mamario en base a la

expresión tumoral de los receptores anteriormente nombrados, el análisis incluyó las historias clínicas de 197 pacientes de sexo femenino con diagnóstico de cáncer de mama invasivo (estadio I-III) intervenidas quirúrgicamente entre marzo 2006-marzo 2008. Se extrajeron los siguientes datos: edad, tipo histológico, grado histológico, tamaño tumoral patológico, estado de los ganglios linfáticos axilares, estadificación TNM y niveles de expresión de HER2, RE y RP estudiados mediante IHQ. Los RE y RP se determinaron mediante anticuerpos monoclonales y los resultados fueron considerados positivos cuando se informó inmunotinción nuclear mayor al 1% de las células tumorales. El nivel de expresión de HER2 se determinó mediante Herceptest®, los informes se clasificaron según las recomendaciones vigentes de ese periodo en 4 grados:

- 0, ausencia de tinción de membrana
- +1, tinción de membrana parcial y débil
- +2, tinción de membrana completa y débil en menos del 10 % de células tumorales
- +3, tinción de membrana completa e intensa en más del 10% de células tumorales

Se consideró positivo el resultado con inmunotinción 3+.

Los resultados obtenidos indican que la edad media fue de 55 años, siendo el 67% mayor de 50 años. La mayoría de las pacientes demostró características clínicas y patológicas beneficiosas para su enfermedad, tales como: pequeño tamaño tumoral, ganglios axilares negativos, grado histológico bajo, etc. También los RE o RP, o medidos conjuntamente, arrojó un resultado positivo en el 78% de los casos. Por otro lado, el 17% fue triple negativo, subtipo basal, vinculándose esto a menor edad de diagnóstico, y mayor agresividad biológica. El resultado de la expresión de HER2 en las células tumorales fue positivo en el 10% de los casos, por lo que las conclusiones obtenidas respecto a este hallazgo fueron discordantes con las reportadas en la bibliografía estudiada, llegándose a la conclusión de que la sobreexpresión de HER2 en tumores mamarios invasivos de la población uruguaya tiene menor prevalencia que en otros países de Europa y América, no encontrándose en cambio, diferencias en la prevalencia de cánceres con receptores de estrógeno y progesterona.(8)

Subtipos luminal A y B: Los dos subtipos luminales, A y B, expresan el receptor de estrógenos y son similares a las células luminales normales de la mama. Los Tumores luminal A son los más comunes de la mama, y los más comunes de los cinco subtipos de cáncer de mama; poseen una mayor expresión de receptores de estrógenos y los genes de estrógenos asociada ESR1, GATA3, y FOXA1, en comparación con los tumores luminales B, y no expresan HER2/neu. Los tumores luminal A se asocian con un mejor pronóstico y son menos agresivos que los subtipos de tipo basal o HER2/neu. Por otro lado, los tumores luminal B tienen similares características de expresión que los tumores sin receptores de estrógenos, tales como aumento de la frecuencia de mutaciones de TP53. TP53, es un gen supresor de tumores a menudo mutado en el síndrome de Li-Fraumeni, se ha demostrado que tiene una fuerte asociación con los subtipos de tipo basal y HER2/neu. Los pacientes con tumores luminal B también tienen una menor supervivencia general que aquellos con el subtipo luminal A. Las diferencias entre los dos subtipos luminales sugieren que el pronóstico de los que tienen receptores de estrógenos, no sólo está determinado por la presencia de ellos, sino también de otros factores que trabajan con la regulación de estos receptores responsable de los estrógenos.

Un estudio reciente de Cheang et al., estableció que un inmunopanel de cuatro marcadores, que consiste en ER y PR, HER2/neu y el índice Ki-67 (es decir, porcentaje de células positivas para la tinción nuclear para Ki-67) fue capaz de distinguir luminal A de luminal B cuando se prueba en un población de 357 personas con cáncer de mama. Los tumores luminales se dividieron en tres grupos: luminal A, definido como ER o PR positivo, HER2/neu negativo, e índice Ki-67 de proliferación baja; luminal B, definida como ER o PR positivo, HER2/neu negativo e índice Ki-67 de proliferación elevado; y tumores HER2/neu-positivos. Se determinó que el punto de corte del índice Ki-67 es de proliferación del 14% o mayor, pudiendo discriminar luminal B de luminales A. El pronóstico de la subtipificación definido por los inmunopaneles de cuatro marcadores descritos anteriormente, también se han investigado en una serie de 4046 microarrays de tejido independiente de cáncer de mama, 2847 de los

cuales eran receptores hormonales positivos. En comparación con luminal A, luminal B y tumores HER2/neu-positivos, se asociaron significativamente con una supervivencia cáncer específica libre de recurrencia, tanto en la presencia o ausencia de un tratamiento sistémico adyuvante con tamoxifeno solo o quimioterapia. Ki-67 es un antígeno nuclear que se encuentra en las células durante la fase proliferativa del ciclo celular (fase G1, fase S, fase G2 y la fase M), pero no en las células durante la fase de reposo (fase G0). La proteína puede ser identificada por el anticuerpo monoclonal MIB-1. Varios estudios han descrito la importancia pronóstica del marcador de proliferación Ki-67 en los cánceres de mama en fases iniciales e invasivos. Existe una fuerte asociación entre el número de células positivas para la tinción de Ki-67 y el grado nuclear, la edad, el índice mitótico y la presencia de otros marcadores de la proliferación, tales como el antígeno nuclear de proliferación celular. En los tumores de mama que sobreexpresan más del 50% de las células Ki-67 se asocian con una supervivencia global y libre de enfermedad más corto. Spitale et al., describe cómo se expresa Ki-67 diferencialmente a través de una gran población de 1214 cánceres de mama agrupados en subtipos moleculares de acuerdo a los marcadores clásicos IHC ER, PR y HER2/neu. Encontraron disminución de la expresión de Ki-67 en el luminal subtipo A en comparación con los tumores de tipo basal y HER2/neu. (7)

Hugh et al., recientemente investigó la importancia de subtipificar tempranamente el cáncer de mama con ganglios positivos, usando algo parecido a inmunopaneles de cuatro marcadores. Se analizaron los datos patológicos de 1.350 pacientes del “grupo de investigación internacional del cáncer de mama” (BCIRG) 001, un ensayo de fase III comparando docetaxel, doxorubicina y ciclofosfamida (TAC), con fluorouracilo, doxorubicina y ciclofosfamida (FAC) como tratamiento adyuvante de nódulos positivos del cáncer de mama operable. Determinaron que la TAC complementa significativamente la terapia endocrina en pacientes con luminal A. Esto sugiere que un inmunopanel de cuatro marcadores puede dividir los tumores de mama en subtipos distintos con un potencialmente fuerte efecto pronóstico. (7)

Sobre-expresión del subtipo HER2/neu: El subtipo que sobreexpresan HER2/neu (receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano o *c-erb B2* o *neu*) se identifica en los cánceres de mama con el aumento de expresión de genes localizados en la misma región en el cromosoma 17q. Estos incluyen el receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2, ErbB2, un proto-oncogén, que cuando se sobre expresa se asocia con un alto grado histológico, la baja expresión de receptores hormonales, y un peor pronóstico clínico. Este subtipo es particularmente resistente a la terapia endocrina con independencia del estado de receptores hormonales y garantiza el tratamiento con un anticuerpo monoclonal recombinante, trastuzumab (Herceptin), el cual está demostrado, que mejora significativamente los resultados del paciente.(7)

Alteraciones en la amplificación de ErbB2 y en la sobre expresión de la proteína HER2/neu, generalmente se producen en simultáneo. Estas alteraciones pueden ser precisas por fluorescencia en hibridación in situ (FISH) o IHC. Sin embargo, estudios recientes han sugerido que existen problemas de reproducibilidad en los casos de tinción IHC 2 + y posteriormente demostrado tener la amplificación de ERBB2 por FISH. Nuevas directrices de la American Society of Clinical Society y el Colegio Americano de Patólogos introdujeron el término "equivoca" para clasificar los estudios HER2/neu que puntúan 2 + por IHC. Que definen un resultado negativo como tinción IHC de 0 o 1 + y un resultado positivo como manchar 3 +, y recomiendan medidas adicionales como el FISH, para determinados resultados equivocados, es decir, 2 +.(7)

Subtipo basal: El subtipo basal, fue identificado entre el 2% y el 18% de todos los cánceres de mama, expresan citoqueratinas de alto peso molecular (CK) en sus células mioepiteliales. Se trata de un curso clínico agresivo, con epitelio maligno de mama mesenquimal, sarcomatoide y metaplasia escamosa. Se reconoció en ese momento que este subtipo de cáncer de mama es de receptores hormonales (estrógeno y progesterona) y del receptor HER2/neu negativo, es decir, el triple negativo. Estudios de los perfiles de expresión de genes, caracterizan el grupo basal mediante la expresión de genes asociados con células mioepiteliales: KRT5 (queratina 5), KRT17 (queratina 17), CNN1 (calponina 1), CAV1 (caveolina) y LAMB1 (laminina). El hallazgo más

clínicamente significativa reveló que este subtipo es más agresivo, y con una menor supervivencia que los otros subtipos de cáncer de mama. Un dilema terapéutico que enfrentan los médicos es que las terapias endocrinas o el trastuzumab son inefectivos en el tratamiento de tumores de tipo basal debido a la falta de los receptores hormonales y el receptor HER2/neu, y la elección de la quimioterapia sigue siendo poco clara. En consecuencia, este subtipo ha sido objeto de una extensa investigación en los últimos años.(7)

Varios estudios han investigado el valor de inmunopaneles para la clasificación molecular de los cánceres de mama. Sin embargo, hay una escasez de consenso entre las autoridades, como al panel de IHC más apropiado a utilizar. Algunos sugieren que la expresión de citoqueratinas de alto peso molecular, por ejemplo, CK 5/6, CK 14 y CK 17, identifica a un grupo de tumores de mama con un pobre resultado que debe considerarse por separado de los tumores triples negativos. Otros sugieren que la ausencia de expresión de los receptores hormonales y el receptor HER2/neu puede definir de manera fiable el subtipo basal.(7)

Nielssen et al., investigaron 4.046 cánceres de mama primarios invasivos, compararon la importancia pronóstica entre una ER, PR y HER2/neu, con un panel de tres marcadores; y un ER, PR, HER2/neu, receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y CK 5/6, con un panel de cinco marcadores; en la definición intrínseca de los subtipos de cáncer de mama. Los Inmunopaneles mostraron como fenotipo triple negativo (TNP) (ER-, PR-, HER2/neu-, EGFR + o CK 5/6 +). Proporcionan evidencia convincente de que la adición de marcadores positivos para EGFR o CK 5/6 identifica una cohorte de pacientes en particular de alto riesgo con significativamente peor pronóstico en comparación con los casos de un fenotipo triple negativo. Una implicación terapéutica para esto se confirma por el hecho de que los pacientes con tumores de mama basal, al igual que los que sobre expresan EGFR pueden beneficiarse de las terapias desarrolladas recientemente que apuntan a que, por ejemplo, inhibidores de la tirosina quinasa (gefitinib, erlotinib) y anticuerpos monoclonales (cetuximab). Otro biomarcador potencial del subtipo basal es CD117, también conocido como c-kit. Este receptor de superficie se une al factor de células madre, estimulando el crecimiento celular. La expresión de c-

kit es más frecuente en los tumores de tipo basal que en otros subtipos; Sin embargo, no influyen en el pronóstico. No se tiene mucha experiencia de imatinib en esta cohorte, de saber si puede o no ser un marcador de la respuesta al tratamiento.(7)

#### MicroRNAs: los nuevos biomarcadores

Los MicroRNA (miRNA) son moléculas cortas, de una sola hebra de ARN reguladoras que han salido recientemente a la luz de la investigación molecular en los mecanismos subyacentes de muchas enfermedades, en particular el cáncer. Son actores clave en numerosos procesos celulares, incluyendo la diferenciación, crecimiento celular y la apoptosis, y ejercen su funcionalidad mediante la unión directamente a sus genes diana, lo que resulta en la represión de traducción de la secuencia diana. Hasta la fecha, varios estudios de perfiles de expresión han identificado varios miRNAs que exhiben patrones de expresión desregulados en tumores de mama en comparación con el tejido normal (miR-21, miR-29b-aumento de la expresión; miR-125 ter, miR-145, miR-10b, MIR-155, miR-17-5p - expresión disminuida).(7) (6)

Varios informes han identificado un conjunto único de miRNAs que actúan como reguladores del estado de los receptores ER y HER2/neu (miR-206 y miR-125a, respectivamente). Utilizando los datos de microarrays de 29 tumores de mama en fases iniciales, analizados mediante un modelo de redes neuronales artificiales, la expresión de miR-372 ha demostrado ser disminuido en el triple negativo de los basales y aumento en el triple positivo del subtipo luminal B. Esto sugiere que miRNAs podrían desempeñar un papel clave en la toma de decisiones para el tratamiento de cada uno de los subtipos de cáncer de mama y pueden ser nuevos biomarcadores útiles en las primeras fases de la enfermedad. Potencialmente, una nueva función de miRNAs ha descrito por Mitchell, demostraron que el miR-141, procedente de xenoinjertos de cáncer de próstata humanos, pasó a la circulación, donde se pueden evaluar y comparar con los controles. Con los rápidos avances y el desarrollo de herramientas de gran alcance para caracterizar y cuantificar miRNAs, es sólo cuestión de tiempo, conocer su papel en el cáncer de mama como biomarcadores mínimamente invasivos, como se define en otros tipos de cáncer. (7)

### Biomarcadores circulantes

Se han desarrollado biomarcadores basados en la proteína de suero y plasma y se utilizan de forma rutinaria como herramientas de detección de muchas enfermedades, incluyendo cáncer de próstata y de ovario. una variedad de marcadores circulantes de tumores también se han descrito para el cáncer de mama, tales como el MUC-1 glicoproteína antígenos de carbohidrato 15-3 (CA 15-3) y CA 27.29 (también llamado BR 27,29), antígeno carcinoembrionario (CEA), antígeno del polipéptido de tejido, antígeno específico del polipéptido de tejido y HER2/neu (dominio extracelular). Sin embargo, debido a la baja sensibilidad y especificidad de estos marcadores biológicos, su uso en la detección de cáncer de mama temprano es limitado. El Grupo Europeo de marcadores tumorales recomienda solamente mediciones seriadas de CA 15.3 y CEA para monitorear la detección temprana de la enfermedad recurrente y respuesta al tratamiento.

Recientemente, dos proteínas de la sangre, el suero amiloideo A (SAA) y la proteína C reactiva (CRP), han sido identificadas como marcadores importantes para la supervivencia del cáncer. Estos dos marcadores no específicos de inflamación crónica de bajo grado se secretan en la circulación en respuesta a citoquinas incluyendo IL-1, IL-6 y el factor de necrosis tumoral.

(7)

Dentro de la familia de IL1, se identifico a la IL33 como posible biomarcador del cáncer de mama, tras descubrir que se expresa el doble en muestras de suero y tejido tumoral en pacientes con cáncer de mama, que lo que se expresa en lesiones benignas del mismo órgano. Esta citoquina unida a su receptor ST2, estimula la producción de citoquina tipo 2, y ejerce tanto una función proinflamatoria como protectora de la inmunidad tumoral, dependiendo del contexto molecular del tejido. También se asocia con un fenotipo tumoral bien diferenciado, la sobreexpresión de HER2, afectación de más ganglios linfáticos, y antecedentes familiares de carcinoma maligno. Estos resultados sugieren que la IL-33 puede jugar un papel importante en el progreso de la enfermedad y puede ser un biomarcador útil para predecir el avance y la probabilidad de metástasis.(9)

Tras un análisis de inmunohistoquímica realizado a una cohorte de 235 tumores de mama esporádicos, se descubrió que RAD51 es un potencial biomarcador y atractivo blanco terapéutico para el cáncer de mama tipo basal. Se determinó que RAD51, debido a la acumulación de errores en su ADN, se sobreexpresa en células tumorales, las cuales sufren alteraciones en su ciclo celular, resistencia a señales de apoptosis y resistencia a agentes de radio y quimioterapia. Así mismo RAD 51 está relacionado a un mayor grado de agresividad tumoral, mayor grado histológico, mayor índice de proliferación, sobreexpresión de HER2, carencia de receptores hormonales, peor pronóstico y mayor número de metástasis precoces (pulmón, SNC, hígado). Referido a esto el mecanismo por el cual RAD 51 favorece la metástasis tumoral es mediante la estabilización del ADN tumoral, y la regulación de  $\beta$ EBP en los genes prometastásicos, estimulándolos y disminuyendo la capacidad de los supresores metastásicos. Además el estudio concluyó que RAD51 Se sobreexpresa intensamente en el 75% de los tumores tipo basal o triple negativo, en el 67% de los HER2 y en el 20% del subtipo luminal A y B.(10)

## **-CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS**

Vimos que en estudios univariados, las muertes con cáncer detectado por mamografía tuvieron una mejoría general y un periodo libre de enfermedad más prolongado comparado con los tumores detectados por síntomas (p menor 0.0001).

Los subtipos moleculares juegan un rol importante en el pronóstico y son considerados a la hora de elegir el tratamiento. El subtipo luminal A se asoció con el mejor periodo libre de enfermedad de los 4 subtipos. (11)

Las nuevas tecnologías de micromatrices (*microarray, gen chips*) han permitido detectar y cuantificar simultáneamente la expresión de numerosos genes (potencialmente el genoma humano completo). Dos grupos de trabajo diferentes compararon muestras de tumores de mama de agresividad alta y baja e identificaron perfiles génicos ("*gene signatures*"), con capacidad pronóstica, predictivos del comportamiento clínico. A estos hallazgos siguieron

algunos otros en esta misma línea, incluyendo un nuevo perfil de 186 genes publicado el año 2007 que correlaciona con supervivencia no sólo en cáncer de mama sino también en cáncer de pulmón, de próstata y meduloblastoma, denominado "perfil génico de invasividad" y obtenido a partir de células con capacidad tumorigénica.(12)

Existen 3 firmas hoy en día publicadas denominadas Oncotype DX, Amsterdam y Rotterdam. De la firma Amsterdam se desprenden 70 genes identificados, y de Rotterdam 76 genes, a pesar de mostrar un diseño estadístico y clínico muy similar, sólo comparten 3 genes en común. En cuanto a la firma Oncotype posibilitó el diseño un algoritmo predictivo de riesgo, agrupando a los pacientes en alto, medio o bajo riesgo. (12)

En la actualidad, una limitación importante en los estudios de expresión génica en el cáncer es la de obtener un número suficiente de tumores en fresco de tal manera que los resultados obtenidos sean significativos. Por otro lado, la utilización de muestras fijadas en formol e incluidas en parafina, y tal como se conservan de forma rutinaria en los servicios de Patología, tiene como principal ventaja el acceso a grandes series de pacientes, lo que permite seleccionar retrospectivamente una casuística y seguimiento bien definidos.(13)

Existen estudios que hoy en día asocian los marcadores biomoleculares con los genes BRCA 1 y BRCA 2. Al primero se los relaciona con los tipos basales y al segundo con los luminal b. (14)

Actualmente se está realizando un proyecto denominado US-LACRN que estudia el perfil molecular en estadios II y III del cáncer de mama en mujeres del continente Americano donde Uruguay forma parte.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Lozano-Ascencio R, Gómez-Dantés H, Lewis S, Torres-Sánchez L, López-Carrillo L. *Tendencias del cáncer de mama en America Latina y el Caribe*. Salud pública de México, 2009; 2 (51): 147-156.

2. Robles S. y Galanis E. *El cancer de mama en America Latina y el Caribe*. Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health, 2002; 12(2): 141-143.
3. Mesa G, Matute G, Estrada M, Ocampo A, Restrepo C, Estrada J. *Cáncer mamario en hombres*. Rev Colomb Cir. 2011; 26: 293-307.
4. Delgado L, Fresco R, Santander G, Aguiar S, Camejo N, Ferrer L, et al. *Expresión tumoral de HER-2, receptores de estrógenos y de progesterona y su relación con características clínico-patológicas en pacientes uruguayas con cáncer de mama*. Rev Med Urug 2010; 3(26): 145-153.
5. Anthony Montoang; Vinay Kumar. Aparato genital femenino y mama. Robbins Patologia Human. 8ª ed., España, Elsevier Saunders, 2009; p. 752-762.
6. Miranda A, Sánchez G, Rodríguez S, Romero S, Rebollar R, Uribe L; El Genoma del Cáncer de Mama; Instituto Nacional de Medicina Genómica, Fundación Mexicana de Fomento Educativo para la prevención y Detección Oportuna del Cáncer de Mama; 2009
7. McCafferty M; Healy N; Kerin M. Breast cancer subtypes and molecular biomarkers. Diagnostic Histopathology 2009; 15(10): 485-9.
8. Delgado,L , Fresco,R , Santander,G , Aguiar,S , Camejo,N , Ferrero,N, et al. Expresion tumoral de HER-2, receptores de estrógenos y de progesterona y su relacion con características clínico-patológicas en pacientes uruguayas con cancer de mama. Rev Med Uruguay 2010; 26: 145-153.
9. Jing Liu,Jia-Xin Shen,Jia-Lin Hu,Wen-He Huang and Guo-Jun Zhang. Significance of interleukin-33 and its related cytokines in patients with breast cancers. Liu et al, April 2014; 141 (5):1-6.

10. Adrian P Wiegmans, Fares Al-Ejeh, Nicole Chee, Pei-Yi Yap, Julia J Gorski, Leonard Da Silva, et al. Rad 51 supports triple negative breast cancer metastasis. *Oncotarget*, April 2014; 10(5): 3261-3272
11. Kim J, Lee S, Bae S, Young Choi M, Lee J, Jung S, et. al. Comparison between screen-detected and symptomatic breast cancers according to molecular subtypes. *Breast Cancer Res Treat.* 2012; 131: 527-540
12. Astudillo-de la Vega H, Ruiz-García E., Muñoz-González D, Barajas-Figueroa J, Lázaro-León J, Maldonado H, Valero V. Biomarcadores del cáncer de mama vs firmas genómicas: hacia la búsqueda de una terapia personalizada. *Revista Mexicana de Mastología.* Enero-Abril, 2014; 1(4): 9-17.
13. Hardisson D. Cáncer de mama y perfiles de expresión génica: hacia una terapia personalizada del cáncer. Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica. Agosto 2014.
14. Larsen M, Kruse T, Tan Q, Lænkholm A, Bak M, Lykkesfeldt A; Classifications within Molecular Subtypes Enables Identification of BRCA1/BRCA2 Mutation Carriers by RNA Tumor Profiling; May 2013; (8)
15. Deyarmin B, Kane J, Valente A, van Laar R, Gallagher C, Shriver C, Ellsworth R. Effect of ASCO/CAP guidelines for determining ER status on molecular subtype. *Ann Surg Oncol.* 2013 Jan; 20(1):87-93
16. Santagata S, Thakkar A, Ergonul A, Wang B, Woo T, Hu R. et al. Taxonomy of breast cancer based on normal cell phenotype predicts outcome. *J Clin Invest.* 2014; 124(2):859–870
17. Nagy Z, Kovács I, Török M, Tóth D, Vereb G, Buzás K, et al. Function of RasGRP3 in the formation and progression of human breast cancer; Nagy et al. *Molecular Cancer*, 2014; 13:96

18. Qiu Y, Pu T, Li L, Cheng F, Lu Ch, Sun L, et al. The expression of Aldehyde Dehydrogenase Family in Breast Cancer. *Journal Breast Cancer*. 2014 March; 17(1): 54-60
19. Wu L, Herman J, Brock M, Wu K, Mao G, Yan W. Silencing DACH 1 promotes Esophageal Cancer Growth by inhibiting TGF- $\beta$  Signaling. *PLoS One*. 2014 Apr 17;9(4):e95509
20. Wang G, Xu D, Chau Q, Tan X, Zhang Y, Gu N, Tang J. Magnetic fluid hyperthermia inhibits the growth of breast carcinoma and downregulates vascular endothelial growth factor expression. *Oncology Letters*. 2012; 7: 1370-1374
21. Agboola A, Banjo A, Anunobi C, Ayoade B, Deji-Agboola A, Musa A, et al. Molecular profiling of breast cancer in Nigerian women identifies an altered p53 pathway as a major mechanism underlying its poor prognosis compared with British counterpart. *Malaysian J Pathol*. 2014; 36(1): 3-17
22. Zahir M, Minhasand K and Shabbir-Moosajee M; Pleomorphic lobular carcinoma of the male breast with axillary lymph node involvement: a case report and review of literature; Zahir et al. *BMC Clinical Pathology* 2014
23. Tangen I, Krakstad C, Halle M, Werner H, Oyan A, Kusonmano K, et al.; Switch in FOXA1 Status Associates with Endometrial Cancer Progression; *PLoS ONE*; May 2014; (9)
24. Yinguang G, Zhicheng G, Zhongtao Z, Zhang B, Xuemei M and Yu W; Vascular endothelial growth inhibitor affects the invasion, apoptosis and vascularisation in breast cancer cell line MDA-MB-231; *Chinese Medical Journal* 2014;127 (10):1947-1953
25. Champion C, Labrie M, Grosset A, St-Pierre Y; The CCAAT/ Enhancer-Binding Protein Beta-2 Isoform (CEBP $\beta$ -2) Upregulates Galectin-7 Expression in Human Breast Cancer Cells; May 2014; (9)

26. Liu J, Wang L, Gao W, Li L, Cui X, Yang H, Lin W, Dang Q, Zhang N, Sun Y. Inhibitory receptor immunoglobulin-like transcript 4 was highly expressed in primary ductal and lobular breast cancer and significantly correlated with IL-10. Pubmed.gov. Abril 2014
27. Liu B, Li D, Guan YF. BRCA1 regulates insulin-like growth factor 1 receptor levels in ovarian cancer. *Oncol Lett.* 2014 May;7(5):1733-1737.
28. Firoozinia M, Zareian Jahromi M, Moghadamtousi SZ, Nikzad S, Abdul Kadir H. PIK3CA gene amplification and PI3K p110 $\alpha$  protein expression in breast carcinoma. *Int J Med Sci.* 2014 Apr 22;11(6):620-5.
29. Guan R, Xu Y, Lei H, Gao Z, Xin Z, Guo Y. A novel protein is lower expressed in renal cell carcinoma. *Int J Mol Sci.* 2014 Apr 29;15(5):7398-408.
30. Grindedal EM, Aarset H, Bjørnevoll I, Røyset E, Mæhle L, Stormorken A, Heramb C, Medvik H, Møller P, Sjørusen W. The Norwegian PMS2 founder mutation c.989-1G > T shows high penetrance of microsatellite instable cancers with normal immunohistochemistry. *Hered Cancer Clin Pract.* 2014 Apr 21;12(1):12.
31. Rajan,G , Culas,T , Jayalakshmy,PS. Estrogen and progesterone receptor status in breast cancer: a cross-sectional study of 450 women in Kerala,South India. Rajan et al.*World Journal of Surgical Oncology* 2014; 12:120
32. Imigo F. , Mansilla E. , Delama I. , Poblete M. , Fonfach C. Clasificación molecular del cáncer de mama. *Cuad. Cir.* 2011 (25) 67-74
33. Mannello,F and Ligi,D. Resolving breast cancer heterogeneity by searching reliable protein cancer biomarkers in the breast fluid secretome. Mannello and Ligi *BMC Cancer* 2013; 13: 344
34. Geyer,F , Rodrigues,D,MD , Weigelt,B, PhD, and Reis,J,MD,PhD,FRCPath. Molecular classification of estrogen receptor-positive/Luminal Breast Cancers. *Adv Anat Pathol*,January 2012; (19) 1:39-52

35. Provenzano,E , Johnson,N. Overview of recommendations of HER2 testing in breast cancer. *Diagnostic Histopathology*, 2009; (15)10:478-484.
36. Hai-Ying Dong, Zhi-Fei Wang. Antitumor effects of artesunate on human breast carcinoma MCF-7 cells and IGF-IR expression in nude mice xenografts. *Chinese Journal of Cancer Reseach*, 2014;26(2):200-207
37. Tuzlali,S , Yavuz,E , Canda,T , Guray,M , Gecer,M , Sullu,Y et al. In situ hibridization analysis if invasive breast carcinomas with immunohistochemically negative HER-2 status (A national multicenter study). *Turk Patoloji Derg* 2014; 30: 87-93.
38. F Ambrogi, M Fornili, P Boracchi, M Trerotola, V Relli, P Simeone, et al.; Trop-2 Is a Determinant of Breast Cancer Survival; *May* 2014; (9)
39. *Guidelines for Pathology Reporting in Breast Cancer Screening and the Second Edition of The Royal College of Pathologists' Minimum Dataset for Breast Cancer Histopathology*. NHSBSP Publication No 58;January 2005

## **AGRADECIMIENTOS**

Los autores de esta monografía agradecemos en especial a nuestra tutora Dra. Julia Bernachin del Dpto. de Anatomía Patológica, al Sindicato Médico del Uruguay y a la Comisión Honoraria de lucha contra el cáncer

## **ANEXOS**

El American Joint Committee on Cancer utiliza los principales factores pronósticos para dividir a los carcinomas de mama en diferentes estadios:

Estadio 0 CDIS o CLIS supervivencia a los 5 años 92%.

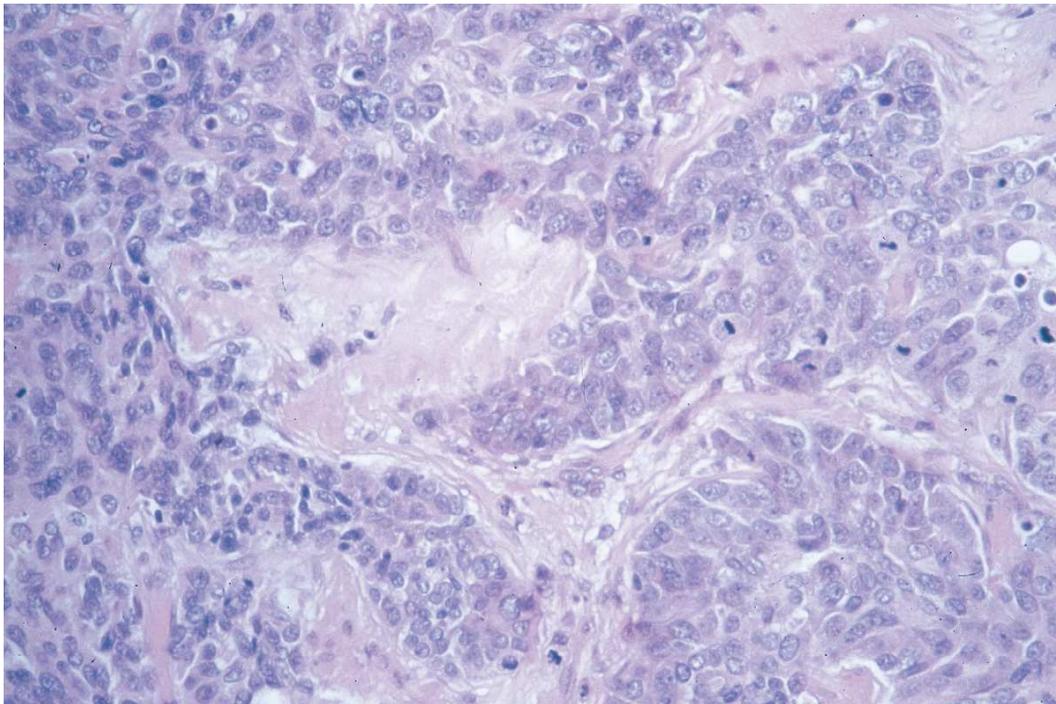
Estadio I carcinoma invasor de diámetro menor o igual a 2cm sin afectación de los ganglios.

Estadio II carcinoma invasor de diámetro menor o igual a 5 cm con hasta 3 ganglio axilares afectados o carcinoma invasor mayor a 5 cm sin afectación ganglionar, supervivencia a los 5 años 75%.

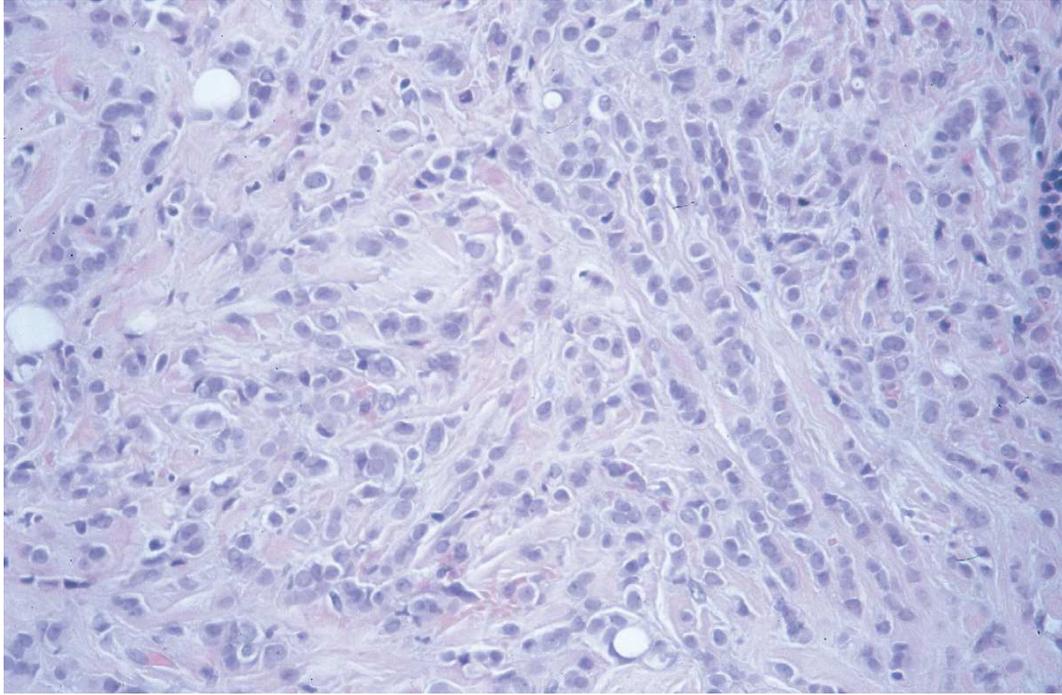
Estadio III: carcinoma invasor de diámetro menor o igual a 5 cm con cuatro o más ganglios axilares afectados; carcinoma invasor de diámetro mayor a 5 cm con afectación ganglionar; carcinoma invasor n 10 o más ganglios axilares afectados; carcinoma invasor con afectación de los ganglios linfáticos mamarios internos homolaterales o carcinoma invasor con afectación cutánea, fijación a la pared torácica o carcinoma inflamatorio clínico.

Estadio IV: cualquier cáncer de mama con metástasis a distancia.

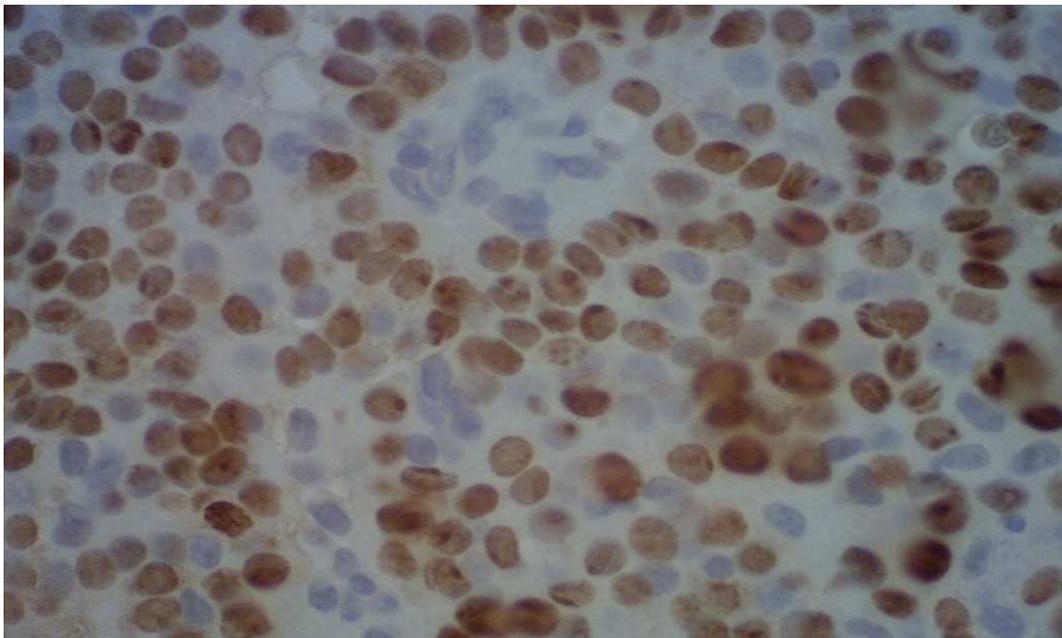
### **Imágenes Histológicas**



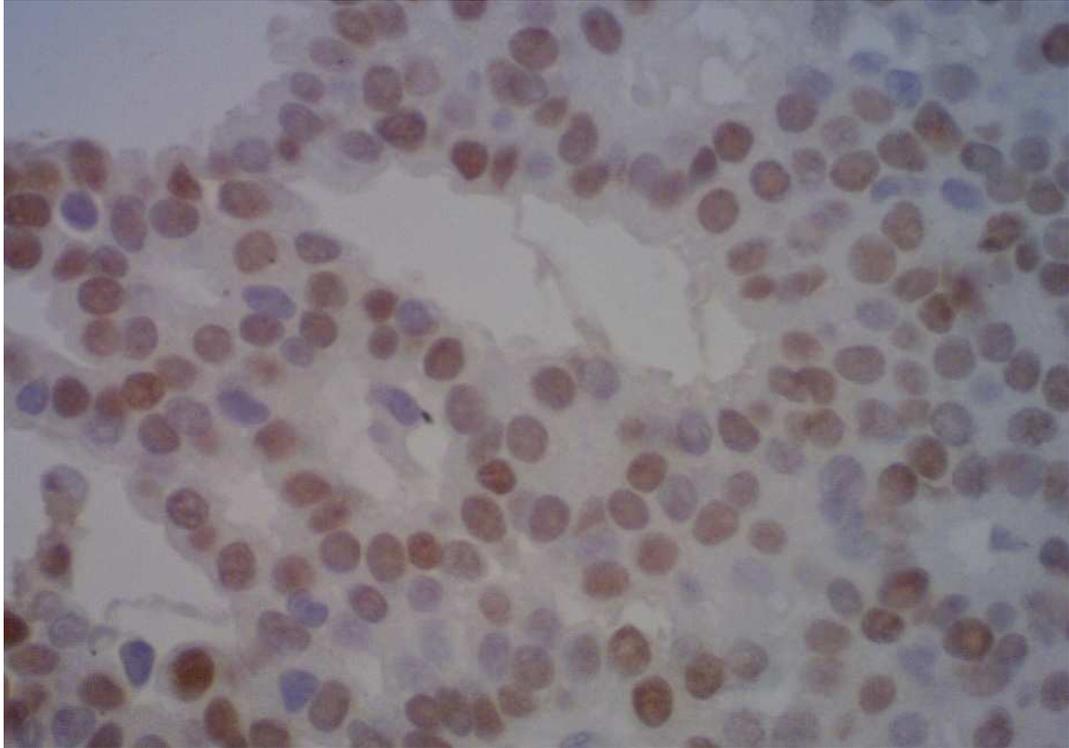
Carcinoma ductal infiltrante (39)



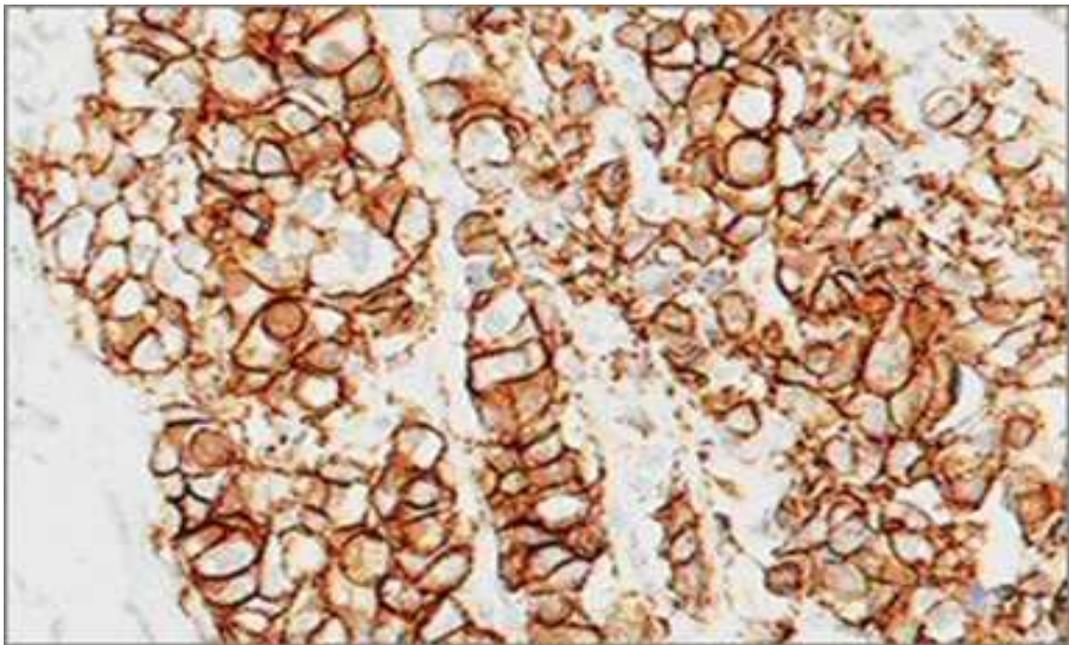
Carcinoma Lobulillar infiltrante (39)



Receptor de Estrógeno



Receptor de Progesterona



Hercep Test (39)

### Classification of the luminal subtype using a four-marker immunopanel

Subtype	ER status	PR status	HER2/ <i>neu</i> status	Ki-67 proliferation index
Luminal A	Positive	<i>and/or</i> Positive	Negative	Low; < 14%
Luminal B	Positive	<i>and/or</i> Positive	Negative	High; > 14%
Luminal-Her2/ <i>neu</i>	Negative	Negative	Positive	High

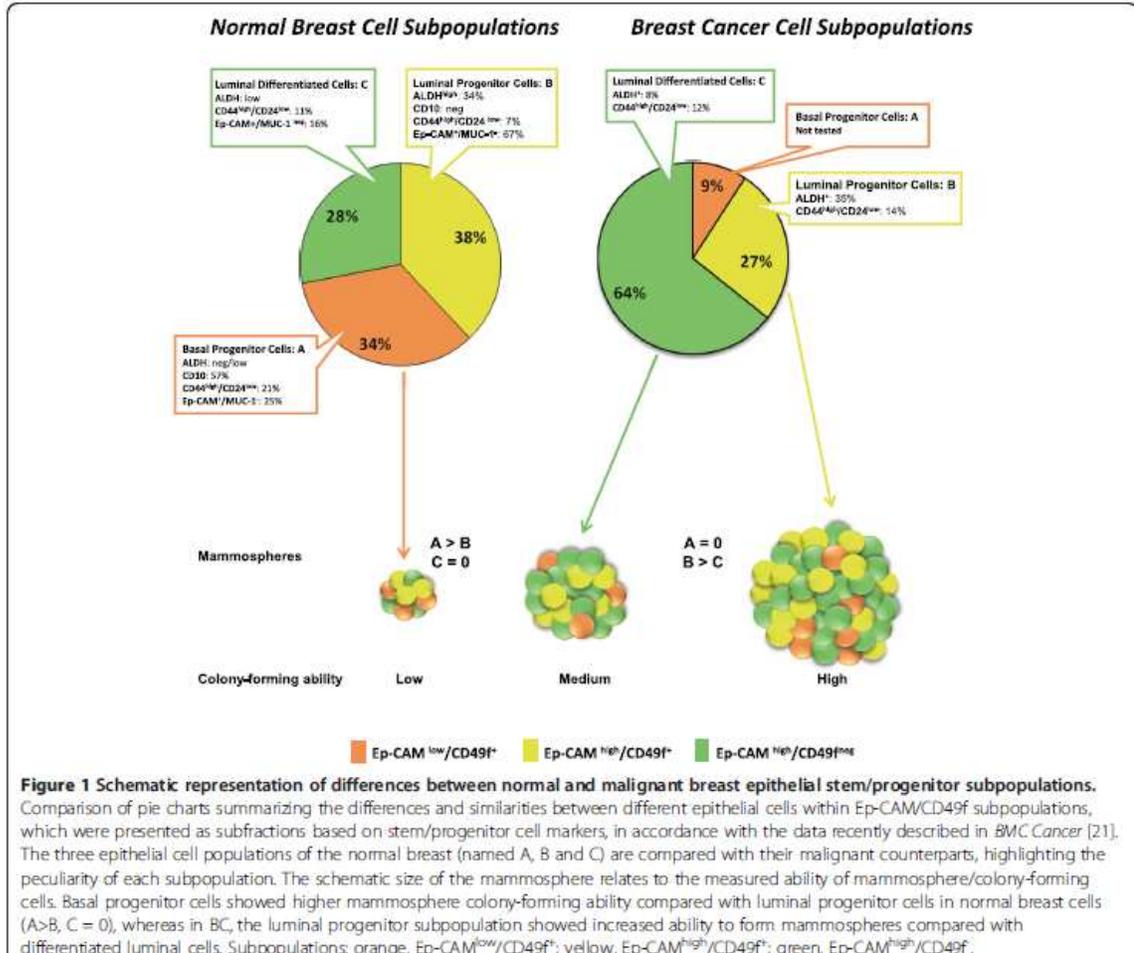
ER, oestrogen receptor; PR, progesterone receptor; HER2/*neu*, human epidermal growth factor receptor 2.

### Classification of the basal-like subtype using a three- or five-marker immunopanel

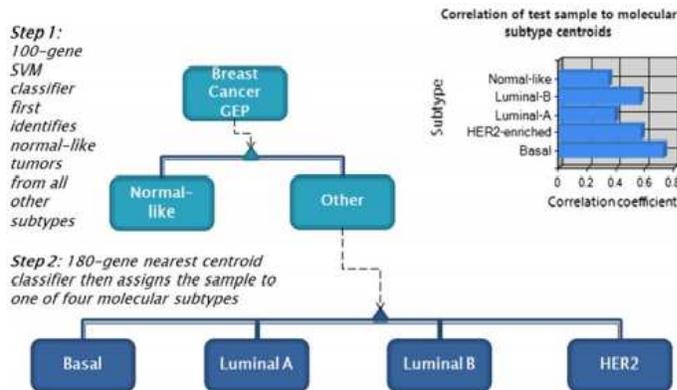
Subtype	ER status	PR status	HER2/ <i>neu</i> status	EGFR status	CK 5/6 status
Triple negative phenotype	Negative	Negative	Negative		
Core basal phenotype	Negative	Negative	Negative	Positive	<i>and/or</i> Positive

ER, oestrogen receptor; PR, progesterone receptor; HER2/*neu*, human epidermal growth factor receptor 2; EGFR, epidermal growth factor receptor; CK, cytokeratin.

Understanding breast cancer stem cell heterogeneity: time to move on to a new research paradigm



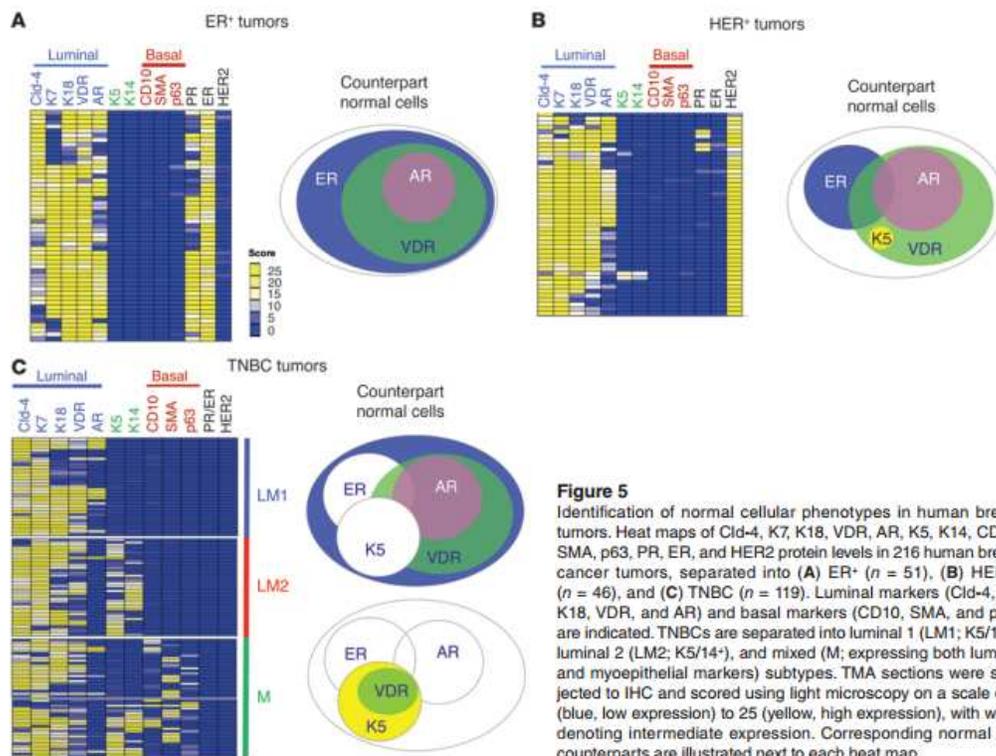
## Effect of ASCO/CAP Guidelines for Determining ER Status on Molecular Subtype



**FIG. 2** Schematic for classification of primary breast tumors into intrinsic subtypes using the BRS classifier. Briefly, a 100-gene classifier representing the normal-like subtype was applied to all tumors. Of those that did not display this normal-like gene expression profile, a second 180-gene classifier comprising gene expression patterns corresponding to luminal A, luminal B, HER2-enriched or

basal-like subtypes was applied. Tumors were then classified based on which subtype they most closely represented at the gene expression level. The *inserted chart* demonstrates the results for one low-staining tumor which has the highest correlation coefficient with the basal-like subtype

## Taxonomy of breast cancer based on normal cell phenotype predicts outcome



**Figure 5** Identification of normal cellular phenotypes in human breast tumors. Heat maps of Cld-4, K7, K18, VDR, AR, K5, K14, CD10, SMA, p63, PR, ER, and HER2 protein levels in 216 human breast cancer tumors, separated into (A) ER<sup>+</sup> ( $n = 51$ ), (B) HER2<sup>+</sup> ( $n = 46$ ), and (C) TNBC ( $n = 119$ ). Luminal markers (Cld-4, K7, K18, VDR, and AR) and basal markers (CD10, SMA, and p63) are indicated. TNBCs are separated into luminal 1 (LM1; K5/14<sup>-</sup>), luminal 2 (LM2; K5/14<sup>+</sup>), and mixed (M; expressing both luminal and myoepithelial markers) subtypes. TMA sections were subjected to IHC and scored using light microscopy on a scale of 0 (blue, low expression) to 25 (yellow, high expression), with white denoting intermediate expression. Corresponding normal cell counterparts are illustrated next to each heat map.