

Clasificación molecular en cáncer de mama.

XLVII Escuela Argentina de Mastología.

María Josefina Yacobucci

RESUMEN

Introducción

El cáncer de mama es el tumor maligno más frecuente en las mujeres de nuestro país. La heterogeneidad del mismo, llevo a la búsqueda de herramientas para la toma de decisiones terapéuticas. En el año 2000 Perou y col, establecieron una clasificación molecular, en base al estudio de los genes. Se agruparon entonces en cuatro subtipos moleculares 1) luminales A 2) luminal B, los cuales expresan genes asociados a las células epiteliales luminales 3) Amplificación del HER-2 y 4) Subtipo RE negativo, que comprenden los basales.

Desarrollo

Los distintos subtipos moleculares, tienen diversas características, tanto a nivel clínico como histológico y pronóstico. El subtipo luminal, se caracteriza por presentarse histológicamente como tumores de bajo grado, con buen pronóstico. Los Her2 son tumores moderadamente diferenciados con un pronóstico menos favorable que los anteriormente mencionados, y por último el triple negativo, que frecuentemente son de alto grado y de mal pronóstico. Por otra parte

Hospital Cesar Milstein, Residente de tercer año de Anatomía Patológica.

Correo electrónico: josefina_yacobucci@hotmail.com

cada subtipo molecular se relaciona con variantes histológicas específicas. Los patólogos debemos correlacionar los patrones histológicos con los resultados inmunohistoquímicos.

Conclusiones

Las técnicas de biología molecular son un avance que nos han permitido conocer la heterogenicidad de los tumores de mama. La inmunohistoquímica es una técnica que se debe realizar de rutina en el estudio del cáncer de mama, siempre acompañado de la correlación histológica.

I. INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es el tumor maligno más frecuente en las mujeres de nuestro país. La mortalidad por cáncer de mama en argentina es del 9,3%, con una incidencia de 73 casos por cada 100.000 mujeres.^{1,2} Dicha neoplasia es una enfermedad heterogénea, cuyo pronóstico se basa en diferentes parámetros clínicos, histopatológicos e imagenológicos los cuales nos aportan diferente información para poder predecir tanto el comportamiento biológico del tumor, como la mejor respuesta a las diferentes opciones terapéuticas. En la 8 edición de la AJCC, se puntualiza la importancia no solo de la estadificación según el TNM sino también a los factores genéticos.

El desarrollo de sofisticadas técnicas moleculares denominadas de alto rendimiento como el microarray permitieron estudiar múltiples genes, que han podido establecer el perfil genético o firma genética del tumor dando lugar a que Perou y col en el año 2000, establezcan una clasificación molecular del cáncer de mama, en base a genes relacionados con la expresión o no de los receptores de estrógeno, lo cual define biológicamente distintos fenotipos que podrían derivar de diferentes células progenitoras. Siendo los mismos los siguientes subtipos 1) luminales A y B, los cuales expresan genes asociados a las células epiteliales luminales 2) sobreexpresión del HER-2 y 3) Subtipo RE negativo, que comprenden los basales. Entre los basales actualmente se hallan los bajos en claudinas, ricos en interferón, con sobreexpresión de receptores de andrógenos y los normales.^{3,4}

Existen diferentes formas para determinar la expresión génica, siendo la utilización de cDNA microarray el método de mayor difusión. Este procedimiento se basa en la hibridación de moléculas de DNA complementario preparadas a partir de RNA aislado del tejido tumoral, a secuencias del genoma humano impresas en un soporte sólido (láminas de vidrio o membranas de nitrocelulosa). A fin de reconocer que genes se están expresando en el tumor, el cDNA es marcado con una molécula fluorescente, la cual es posteriormente detectada a través de un láser según la longitud de onda determinada para tal efecto. 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. 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.⁵

Este tipo de estudios biológicos, son generalmente costosos y no todos los centros y hospitales de Argentina tienen la oportunidad de acceder a ellos. Afortunadamente, las técnicas de inmunohistoquímica evidencian la expresión de ciertas proteínas en las células neoplásicas presentes en la muestra, siendo un reflejo considerable y aplicable de los estudios de biología molecular menos costosos. La inmunohistoquímica se utiliza para mostrar antígenos celulares localizados en la membrana, núcleo o el citoplasma así como antígenos extracelulares en los tejidos, usando marcadores individuales o más a menudo, paneles de varias proteínas marcadoras. El uso de anticuerpos monoclonales es parte de la rutina de los laboratorios de patología debido a que son de gran utilidad en el diagnóstico de tumores metastásicos de primario desconocido, tumores de partes blandas, linfomas y leucemias y pueden ayudar a la identificación de algunos agentes infecciosos; además, los anticuerpos monoclonales pueden ser de utilidad como factores pronósticos y predictivos en diversos tumores.⁶ Es importante remarcar que los patólogos debemos estar familiarizados con la interpretación de la inmunomarcación, ya que existen diversos problemas técnicos y de interpretación. Esto puede deberse a problemas en la fijación del tejido, o el tipo, la duración, el sistema de detección y el cromógeno, entre otros. La in-

munohistoquímica nos brinda información adicional, que nos ayuda a entender la biológica de la neoplasia y predecir la respuesta a las diferentes opciones terapéuticas.⁷

II. DESARROLLO

Clasificación Molecular:

El cáncer de mama es heterogéneo a nivel molecular, con diferentes patrones de expresión génica que conducen a diferencias en el comportamiento y el pronóstico. Cuando hablamos de biomarcadores como se mencionó anteriormente, nos referimos a factores pronósticos y predictivos. Por definición un factor pronóstico son características del tumor o del paciente que pueden usarse para predecir la historia natural de la lesión, por ejemplo riesgo de recurrencia, metástasis a distancia, mortalidad. En cambio un factor predictivo es aquel que nos indica respuesta a una terapéutica. En los últimos años se ha hecho necesario completar el informe histológico con un informe en el que se indica la expresión de las técnicas inmunohistoquímicas, actualmente este informe complementario es mucho más relevante para el manejo oncológico de las pacientes que el principal y por tanto se puede interpretar que la clasificación histológica clásica se está quedando obsoleta y que los nuevos marcadores están anticipando la llegada de una "era molecular" a la clasificación del cáncer de mama.^{8,9} Es importante remarcar que por el consenso de Saint Gallen fue aceptado que el subtipo puede ser identificado en base a inmunohistoquímica, no siendo imprescindible efectuar estudios moleculares.¹⁰

No hay que olvidarse que las técnicas de inmunomarcación requieren una serie de procesamientos, que deben ser realizados por técnicos avezados así como patólogos familiarizados con la lectura de dicha marcación. Este proceso se puede dividir en tres etapas distintas:

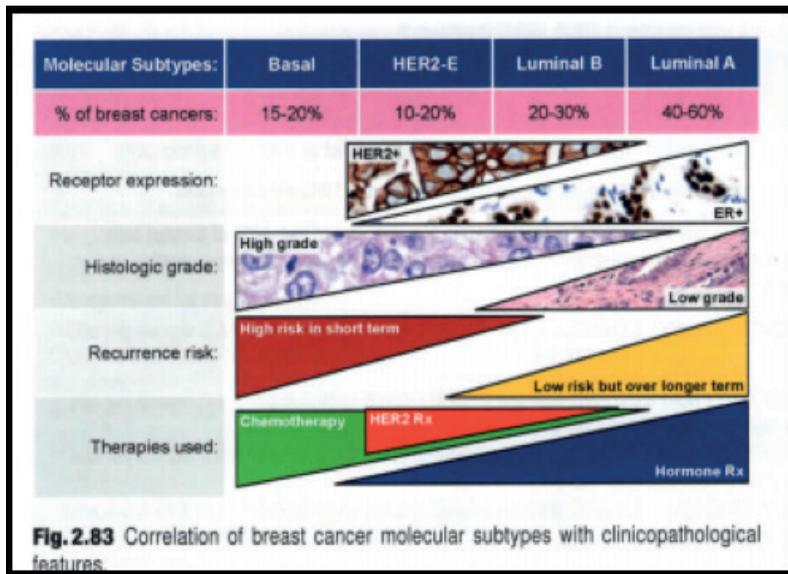
1) Etapa pre analítica: En donde se realiza la fijación del tejido en formol buffer por un periodo de tiempo, entre seis horas y menos de 48 horas. Esta etapa es muy importante para la inmunomarcación y estudios moleculares que se hagan luego.

2) Etapa analítica: en la que se llevan a cabo los métodos manuales o automatizados del procesamiento. Los equipos automatizados dan resultados confiables, validados y son más rápidos.

3) Etapa post- analítica: Requiere de un patólogo entrenado e informado sobre la marcación esperable para la biopsia solicitada, esta mostrara ausencia o presencia de expresión proteica en el núcleo, citoplasma o la membrana celular. Siempre es importante además tener controles internos y externos en nuestra muestra, para corroborar la veracidad de nuestra marcación.¹¹

Según la clasificación de la WHO 2019, el cáncer de mama puede ser clasificado en:

Subtipo Molecular (OMS 2019)					
inmunofenotipo	LUMINAL A	LUMINAL B (HER2 negativo)	LUMINAL B (HER2 positivo)	HER-2	TRIPLE NEGATIVO
Receptor de estrógeno	Positivo	Positivo	Positivo	Ausente	Ausente
Receptor de progesterona	Positivo alto	Negativo o bajo	Variable	Ausente	Ausente
HER-2	Negativo	Negativo	Amplificado	Amplificado	Negativo
KI-67	Bajo	Alto	Variable	-	-



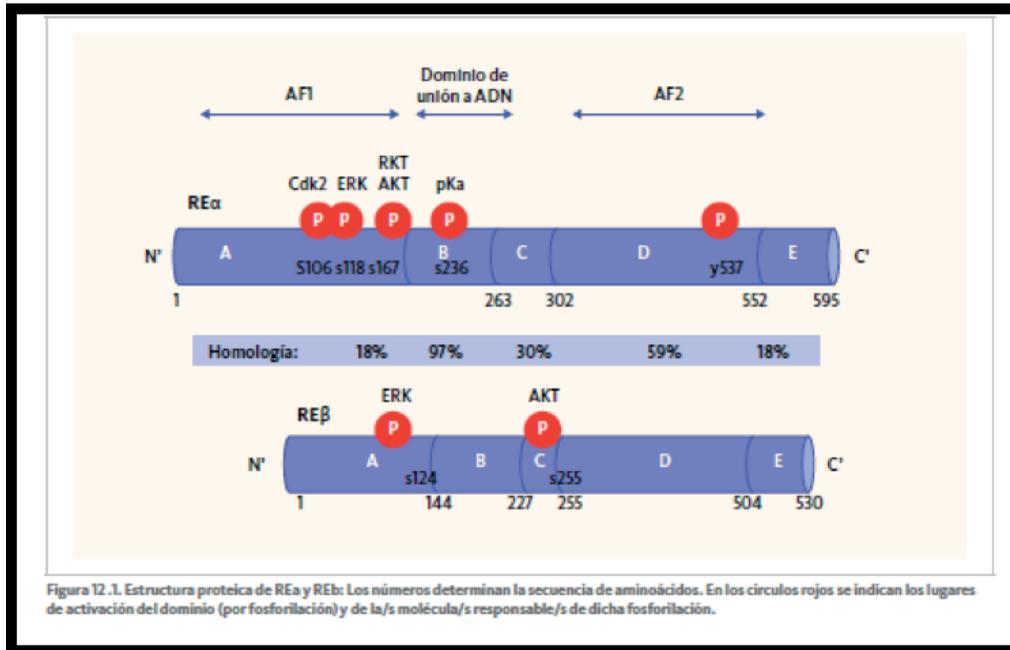
Correlación de los subtipos molecular del cáncer de mama con factores clínico patológicos.⁸

RECEPTORES HORMONALES:

Receptor de estrógeno:

Los receptores de estrógeno (RE) son factores de transcripción nuclear, que al unirse a las hormonas esteroideas regulan la transcripción de genes responsables de la regulación del desarrollo, crecimiento y diferenciación del tejido mamario. Este tipo de receptores se llaman dependientes de ligando. El receptor de estrógeno está constituido por dos isoformas homólogas codificadas en cromosomas diferentes. Una isoforma alfa codificada por ESR1 (6q21,1) y la isoforma beta codificada por ESR2 (14q 23,2).

Las proteínas codificadas por dichos genes están constituidas por 5 dominios (A.B.C.D y E) y presentan una alta homología. El dominio N terminal A/B es capaz de transactivar la transcripción génica en ausencia de ligando, aunque esta activación es leve y más selectiva comparada con la activación asociada al dominio E. También se conoce como AF1 (Activating Factor 1). El dominio C, también conocido como dominio de unión al ADN, se une a zonas concretas de este, conocidas como elementos de respuesta a estrógenos (ERE). El dominio D es una región bisagra, flexible que conecta los dominios C y E y que,



se cree, influye en el tráfico y distribución subcelular del receptor de estrógeno. Finalmente, el dominio E contiene la cavidad que se une al ligando, así como a proteínas coactivadoras y co-represoras. Es el dominio que activa la transcripción génica en presencia del estrógeno y también conocido como AF2 (Activating factor 2). En el extremo C terminal existe además el dominio F, que es variable en longitud, incluye la hélice 12 (h12) y podría explicar en parte las diferencias de respuesta de RE entre estradiol y SERMs.

RE alfa y REbeta se unen a su ligando natural, estradiol (E2), con igual afinidad, pero en cambio, interactúan de forma diversa con otros estrógenos naturales o sintéticos. Así, E1 y raloxifeno se unen preferentemente al REalfa mientras que E3 y genosteina se unen preferencialmente al REbeta.

En respuesta a la señalización iatrogénica, REalfa normalmente promueve la proliferación del epitelio normal y neoplásico, por lo que se le reconoce un papel fundamental en el desarrollo del cáncer de mama, mientras que RE beta tiene en general un efecto anti proliferativo y pro-apoptótico.¹²

La presencia de RE implica que los mecanismos celulares normales para procesar esta hormona se encuentran conservados a pesar de la transformación neoplásica.

Receptor de progesterona:

Los receptores de progesterona (RP) forman parte de la familia de receptores hormonales nucleares. Tras unirse a su ligando en el citoplasma, el complejo RP-progesterona se transloca al núcleo, dimeriza y actúa sobre el ADN. El gen que codifica para RP, PGR, se localiza en el cromosoma 11q22-q23 y su transcripción se halla regulada por el propio RE, que de esta manera, puede mediar en los efectos de la progesterona durante el desarrollo de la glándula mamaria normal así como en la génesis del cáncer de mama.

Se conocen tres isoformas de receptor :RP-A, RP-B y RP-C Las cuales son codificadas por el mismo gen RPG, pero en cada caso con sitios distintos de inicio de la transcripción. Habitualmente las células coexpresan las isoformas RPA, RPB. RP-B funciona como activador transcripcional y RP-A como inhibidor. El RP-C funciona como un inhibidor dominante del RP-B uterino durante la formación del miometrio.

Los RP se expresan en un 7-10% de las células epiteliales del epitelio luminal de las unidades ductolobulillares mamarias y en un 50-60% de las células del cáncer de mama. Una de las causas fundamentales de la falta de expresión de RP es la hipermetilación de la región promotora del gen RPG y la acetilación de las histonas. Debido al control génico del RE sobre RPG se ha pensado clásicamente que la expresión del RP indica que la vía funcional de RE está intacta. Sin embargo, publicaciones recientes atribuyen al RP un papel mucho más activo, y se cree que puede unirse directamente al RE, redirigiendo la actividad transcripcional de este hacia la transcripción de genes relacionados con un mejor pronóstico.¹²

Según las guías ASCO/ CAP 2020 la evaluación del receptor de estrógeno y progesterona se divide en:

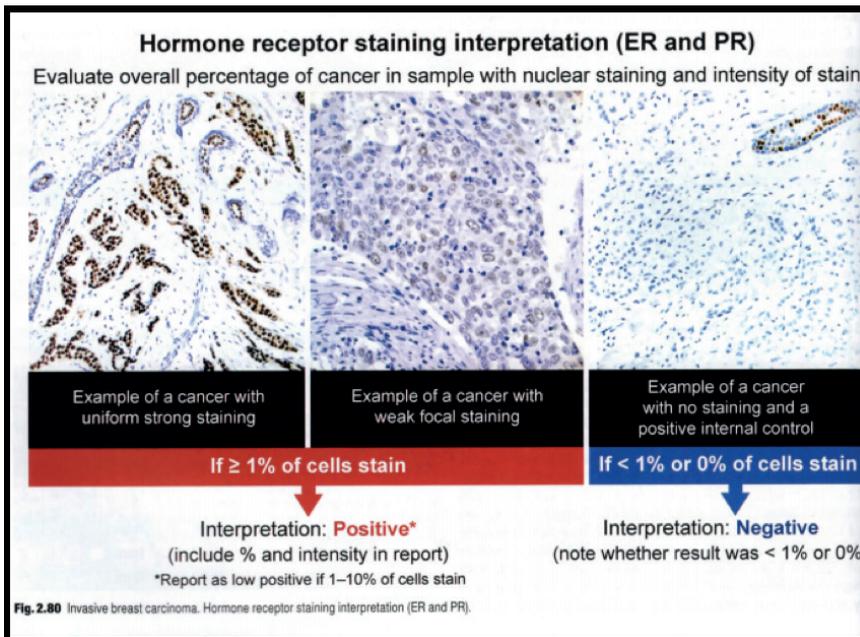
- 1) Receptor de estrógeno/ progesterona positivo: marcación nuclear en células tumorales del 1 al 100%
- 2) Receptor de estrógeno bajo: marcación nuclear en células tumorales del 1 al 10%. Se recomienda un comentario en el informe mencionado luego, el cual explica los limitados beneficios generales de las terapias endocrinas.

Result	Additional Recommended Comment
1%–10% cells staining	The cancer in this sample has a low level (1%–10%) of ER expression by IHC. There are limited data on the overall benefit of endocrine therapies for patients with low level (1%–10%) ER expression, but they currently suggest possible benefit, so patients are considered eligible for endocrine treatment. There are data that suggest invasive cancers with these results are heterogeneous in both behavior and biology and often have gene expression profiles more similar to ER-negative cancers.
No internal controls and ER is 0%–10%	No internal controls are present, but external controls are appropriately positive. If needed, testing another specimen that contains internal controls may be warranted for confirmation of ER status.

Abbreviations: ER, estrogen receptor; IHC, immunohistochemistry.

3) Receptor de estrógeno/ progesterona negativo: marcación nuclear en células tumorales < 1%

4) Muestra no interpretable: si la muestra es inadecuada por cáncer insuficiente o artefactos graves presentes, según lo determinado a discreción del patólogo, si los controles externos e internos (si están presentes) no se tiñen adecuadamente, o si las variables pre analíticas han interferido con la precisión del ensayo.¹³



La American society of clinical oncology (ASCO) y el College of American Pathologist (CAP) realizaron diferentes guías para mejorar el análisis y la evaluación de los receptores hormonales, esto logro aumentos notorios de pacientes con receptores hormonales positivos entre el 79% y el 84%, si bien también se vio influenciado por otros factores como por ejemplo: el aumento de screening, edad, raza, la mayor sensibilidad analítica debido al seguimiento en los protocolos, mejoro la detección adecuada.¹³ Dentro de las recomendaciones, se encuentran las condiciones del manejo de la muestra en donde se menciona:

- El tiempo de isquémica fría, definido como el tiempo que pasa entre la toma de la muestra y la inclusión al formol que debe ser menor a una hora, porque podría alterar de forma irreversible al ADN, ARN y las proteínas de la lesión.

- La correcta fijación de la muestra, que debe ser en formol al 10%, con un tiempo de fijación entre las 6 a 72 horas.

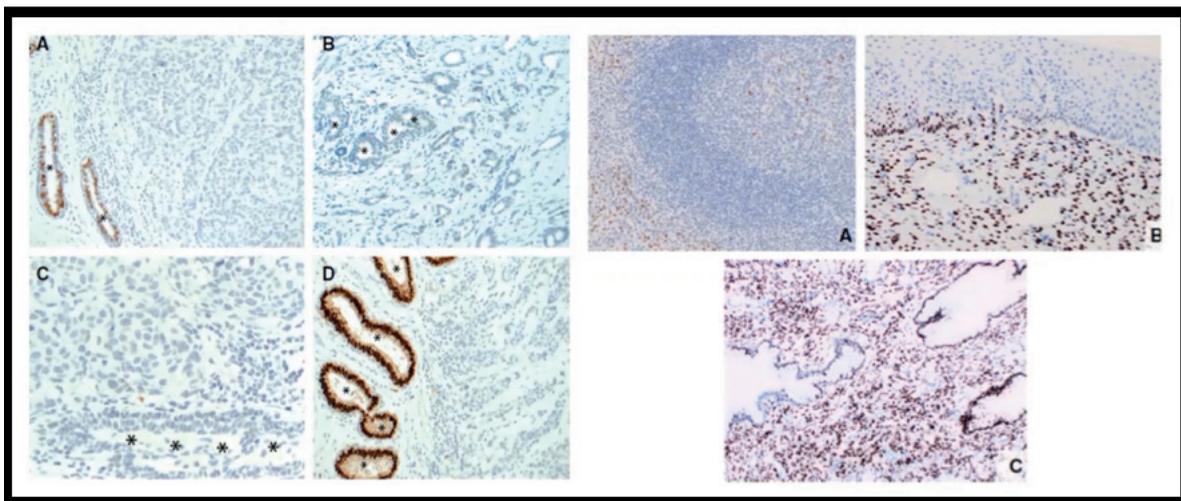
- Utilización de anticuerpos específicos:

Receptor de estrógeno: SP1

Receptor de progesterona: 1A6

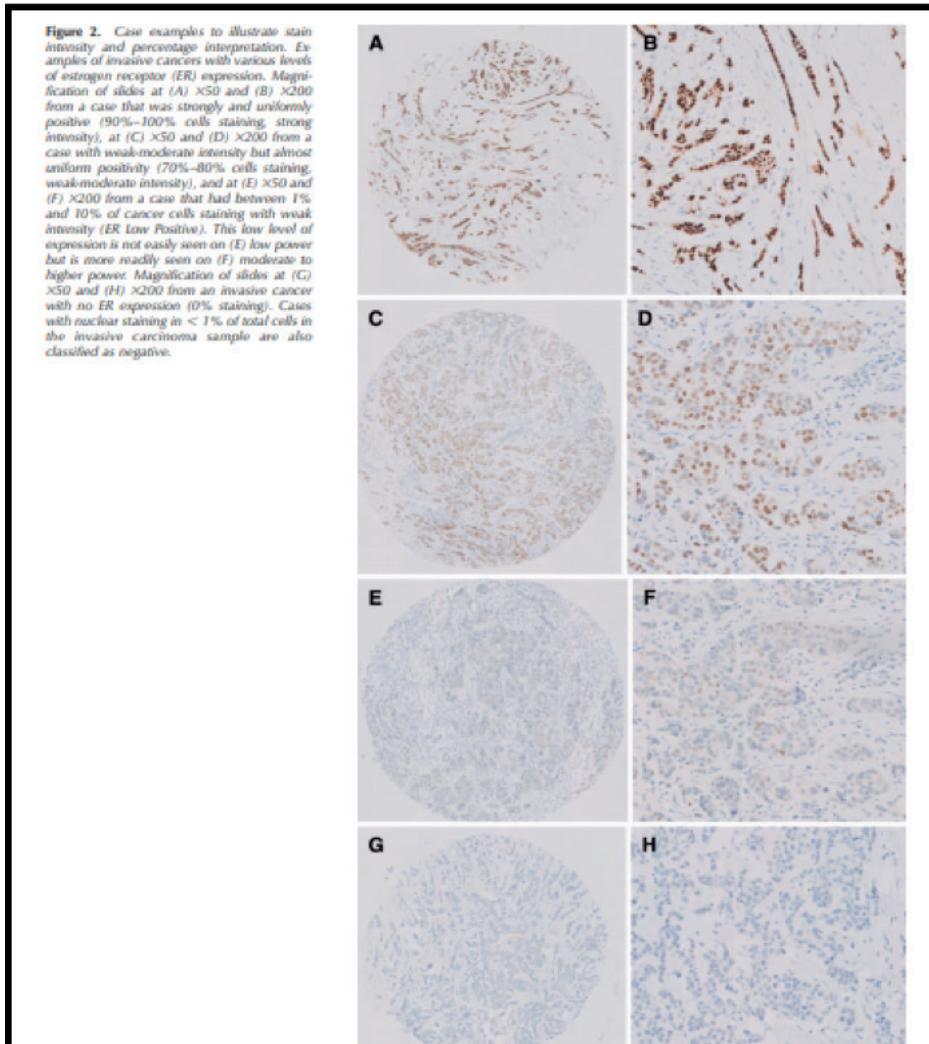
- Controles internos y externos: Son esenciales para evaluar el estado de nuestra muestra, estos deben incluir muestras tanto positivas como negativas, deben tener condiciones similares de fijación. Se sugiere tejidos de amígdala o cuello uterino. Todo lo mencionado anteriormente debe estar plasmado en el informe.

En caso de que sucedan alteraciones en el tejido estudiado por problemas de fijación, conservación de la muestra o por alteración en los controles, se recomienda repetir la marcación para resolver las discrepancias. Si el área tumoral en la biopsia es muy escasa, se aconseja repetir en la pieza quirúrgica.¹⁴

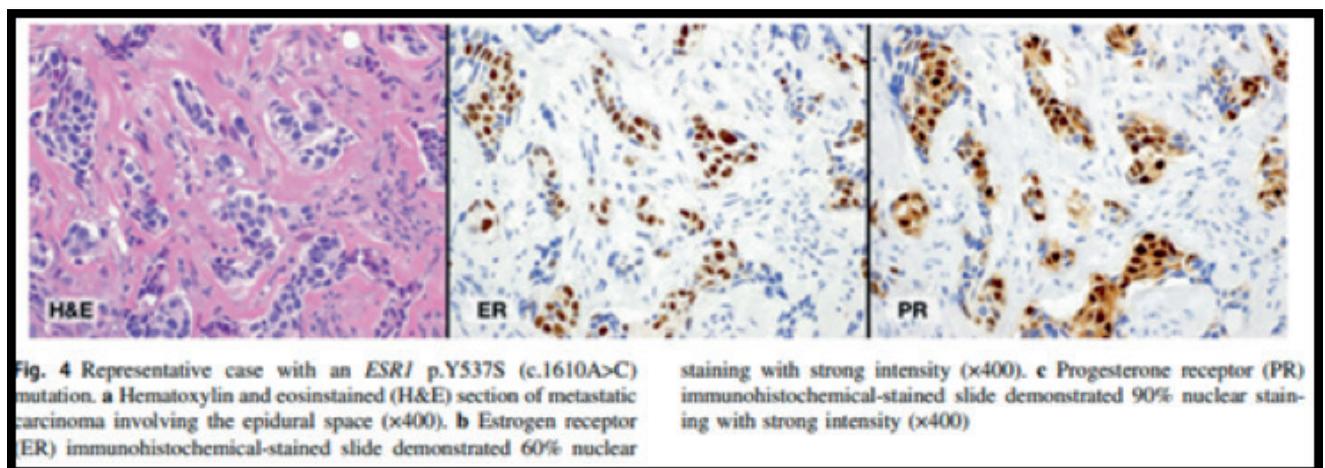


Controles internos y controles externos de receptores de estrógeno.¹⁴

La importancia de un receptor de estrógeno positivo radica en la mayor probabilidad de beneficiarse con la terapia endocrina, además de asociarse con una mayor supervivencia libre de enfermedad (SLE) y mayor supervivencia global (SG). No es claro el papel del receptor de progesterona en cuando a la decisión del tratamiento endocrino. Dunnwald y cols. Demostraron que las pacientes con RP negativo presentaban peor pronóstico respecto a las pacientes con RP positivo. En coincidencia, series nacionales concluyen que el R_p negativo es marcador de agresividad tumoral e indicador de riesgo aumen-



ta de recaída ipsilateral en cáncer de mama. En el ensayo TEAM se demostraron significancia estadística del RP como factor pronóstico, no demostraron esta significancia como valor predictivo.¹⁵



Porcentaje de células marcadas (%)	Intensidad de células marcadas	Interpretación (% + intensidad)
0 (0)	0 (-)	0 a 2 (-)
1 (0-1)	1 (+)	3 a 8 (+)
2 (2-10)	2 (++)	3: muy pobre
3 (11-33)	3 (+++)	4-5: pobre
4 (34-66)		6: intermedio
5 (67-100)		7-8: alto

Score de Allred para receptores hormonales de estrógeno y progesterona:

La información que debe figurar en el informe de patología acerca de los receptores de estrógeno y de progesterona incluye porcentaje de células e intensidad de marcación de las mismas. Esto puede ser incorporado a través del score de allred, el cual combina las dos características necesarias a evaluar.

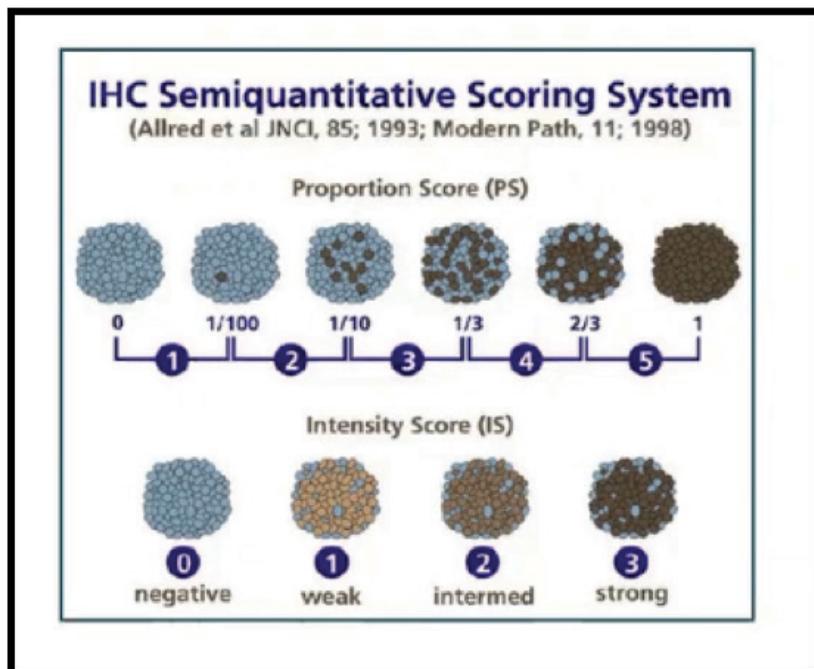
La determinación es semicuantitativa porque al conteo celular porcentual se le adiciona la intensidad de la coloración, que se informa: 1+,2+ o 3+, según sea leve, moderada o intensa. Estos datos pueden volcarse en el informe de patología como porcentaje intensidad, pero también pueden emplearse scores, como por ejemplo el de Allred, en el que se suma porcentaje e intensidad.

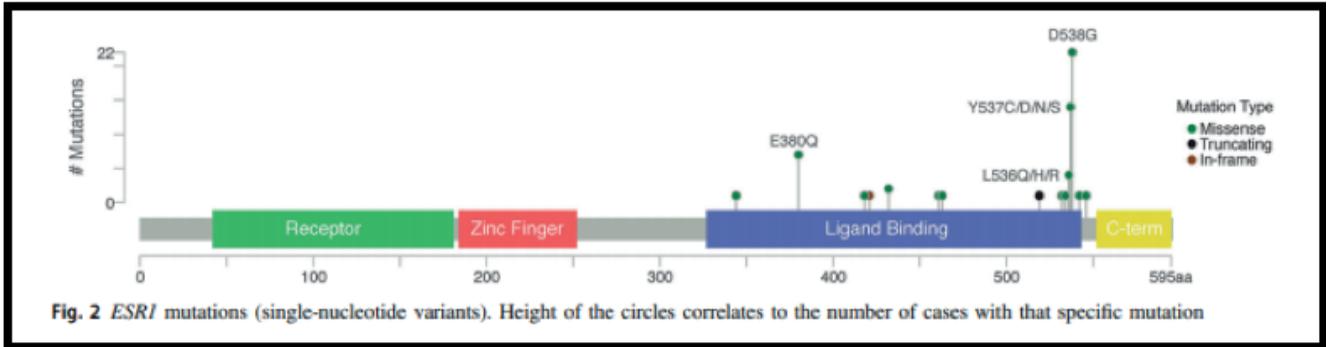
Mutaciones en el receptor de estrógeno:

Hay ciertos pacientes que presentan una mutación del receptor de estrógeno, este evento suele estar asociado con largos periodos de exposición

a terapia endocrina. No es frecuente en pacientes con tumores primarios sin tratamiento anterior.

La mayoría de mutaciones del receptor de estrógeno reportadas modifican el sitio de unión al ligando del receptor de manera que este quede activado de forma constitutiva y, por tanto, independiente del ligando. Según esto, y también en base a datos preclínicos, los tumores con mutaciones de ESR1 serían resistentes a la depleción estrogénica inducida por inhibidores de la aromataza, y en menor medida también a tamoxifeno, y en cambio serían algo más sensibles a dosis altas de fulvestrant u otros fármacos orales degradadores del RE aun en desarrollo.^{15,12}

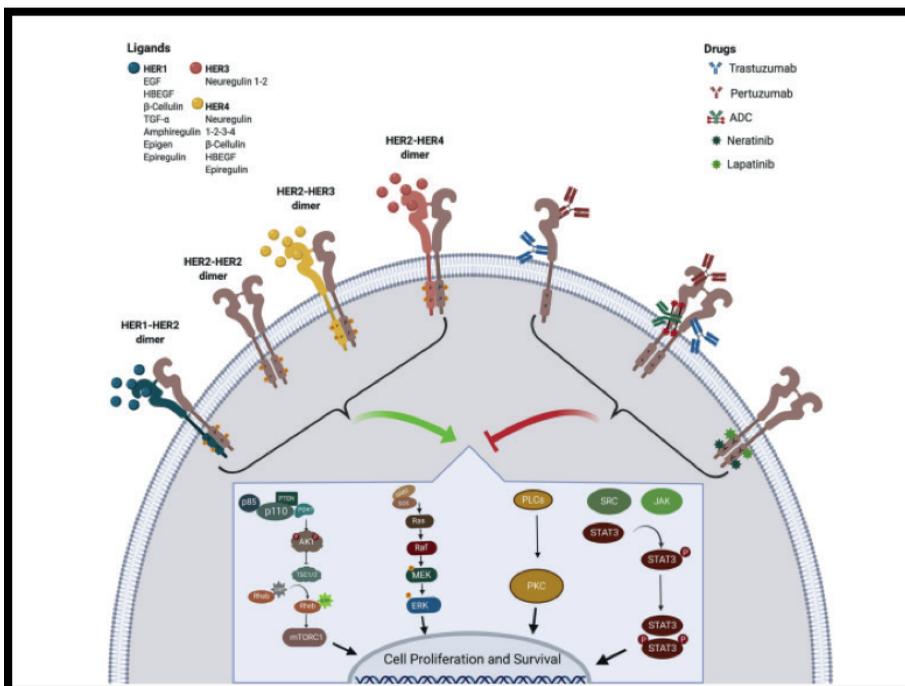




Her2:

HER-2 / neu fue uno de los primeros oncogenes estudiados en cáncer de mama invasivo. Este marcador es positivo en un 10% -20% de los pacientes. Se encuentra ubicado en el brazo largo del cromosoma 17, y codifica un receptor de factor de crecimiento en la superficie de células epiteliales mamarias normales. Pertenece a la familia de glicoproteínas transmembrana her/erbB que está compuesta por cuatro miembros HER1 o EGFR, HER2, que no tiene ligando conocido, HER3, que carece de actividad tirosin-kinasa y HER4. Estos receptores se encuentra expresada en las células epiteliales, mesenquimales, neuronales y en sus progenitores celulares.

Cuando estos receptores se activan son translocados al núcleo, donde participan en la señal celular. La dimerización de estos receptores,



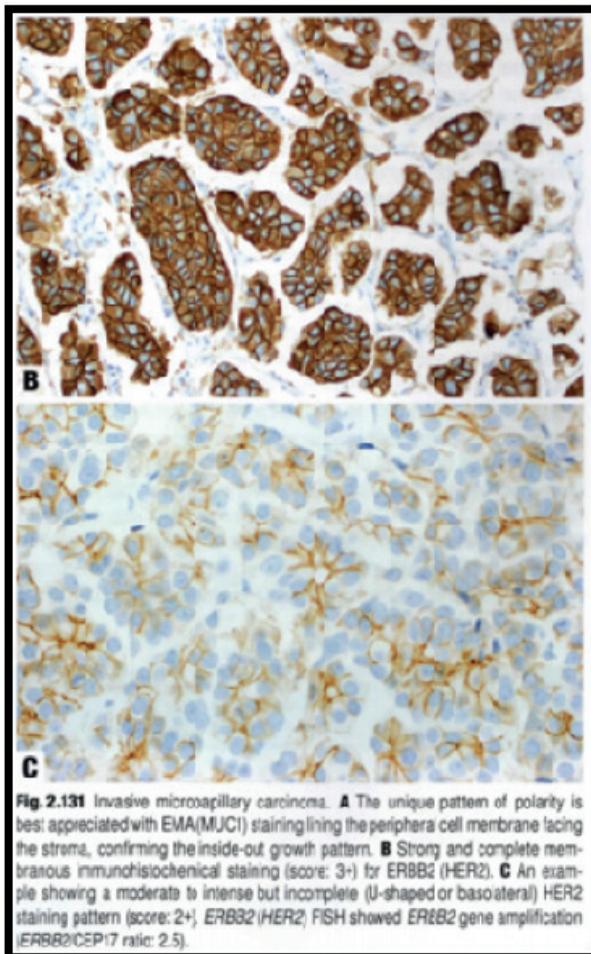
ya sea entre dos diferentes miembros de la familia (heterodimerización) o entre los mismos receptores HER (homodimerización) genera una cascada de señalización capaz de activar otras vías, las mas importantes son la via Raf/Ras/Map kinasa, la via de la fosfolipasa C gamma y la via de señalización pi3 kinasa /akt. De este modo, controlan numerosos procesos celulares como la angiogenesis, la proliferación, la diferenciación, la supervivencia/apoptosis, la migración, la invasión y las metástasis.^{7,8}

La determinación de her2 se realiza mediante varios métodos:

- 1) Inmunohistoquímica
- 2) Hibridación in situ por fluorescencia (FISH)
- 3) Hibridación cromogénica in situ (CISH)
- 4) Hibridación in situ reforzada con plata (SISH)

La inmunohistoquímica detecta la amplificación de la proteína HER2 usando anticuerpos monoclonales o policlonales que se unen a la proteína.

Los resultados de la prueba her2 por inmunohistoquímica se clasifican en tres categorías:



Marcación Her en un carcinoma invasor micropapilar.⁸

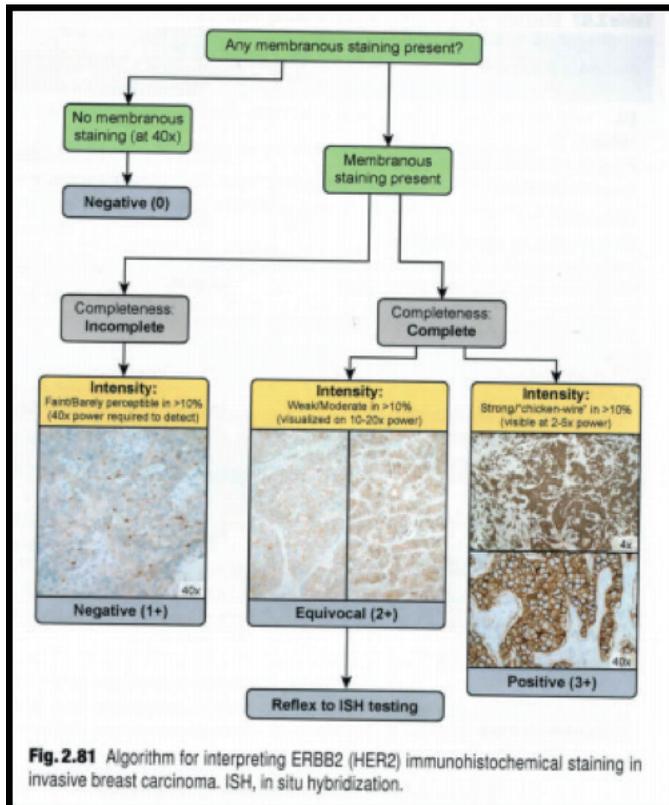
1) Positiva (+++): La tinción de membrana es circunferencial, completa e intensa en >10% de las células tumorales invasoras (patrón chicken wire) siempre observar un área homogénea y contigua de células invasoras.

2) Equívoca (++) : La tinción de membrana es circunferencial pero incompleta y/o débil/moderada en >10% de las células invasoras. Cuando la tinción de membrana es completa y circunferencial, intensa en <10% de las células invasoras. Es obligatorio usar un test confirmatorio (FISH, CISH, SISH) para poder calificarlo de positivo o negativo.

3) Negativa (+/-): La tinción de membrana incompleta es poco perceptible o débil en >10% de las células invasoras, se considera ihq negativa 1+. Cuando no se observa tinción se considera IHQ negativa. Cuando la tinción de membrana es incompleta/débil o apenas perceptible en <10% de las células invasoras se considera inmunohistoquímica negativa.¹²

Ki 67:

Es una proteína nuclear no histona, cuya expresión, cíclica, está unida a la proliferación celular. Su nombre proviene del lugar donde fue descrito KIEL. Dicha proteína se encuentra presente en las fases activas del ciclo celular (G1, S, G2 y mitosis) y está ausente en las células en reposo (G0). Así pues dada la sencillez de su determinación inmunohistoquímica, se ha



convertido en un marcador de proliferación celular ampliamente utilizado como biomarcador en oncología.¹⁶

La proliferación celular siempre ha tenido un papel en la clasificación tumoral y por lo tanto es parte de los factores pronósticos y predictivos. Está incluida dentro del grado histológico tumoral, al tomar en cuenta las mitosis celulares del tumor. Además, es una de las características fenotípicas en que difieren en los subtipos genéticos del cáncer de mama. El Ki67 es una forma de medir la proliferación celular del tumor, utilizando técnicas de inmunohistoquímica.¹⁷

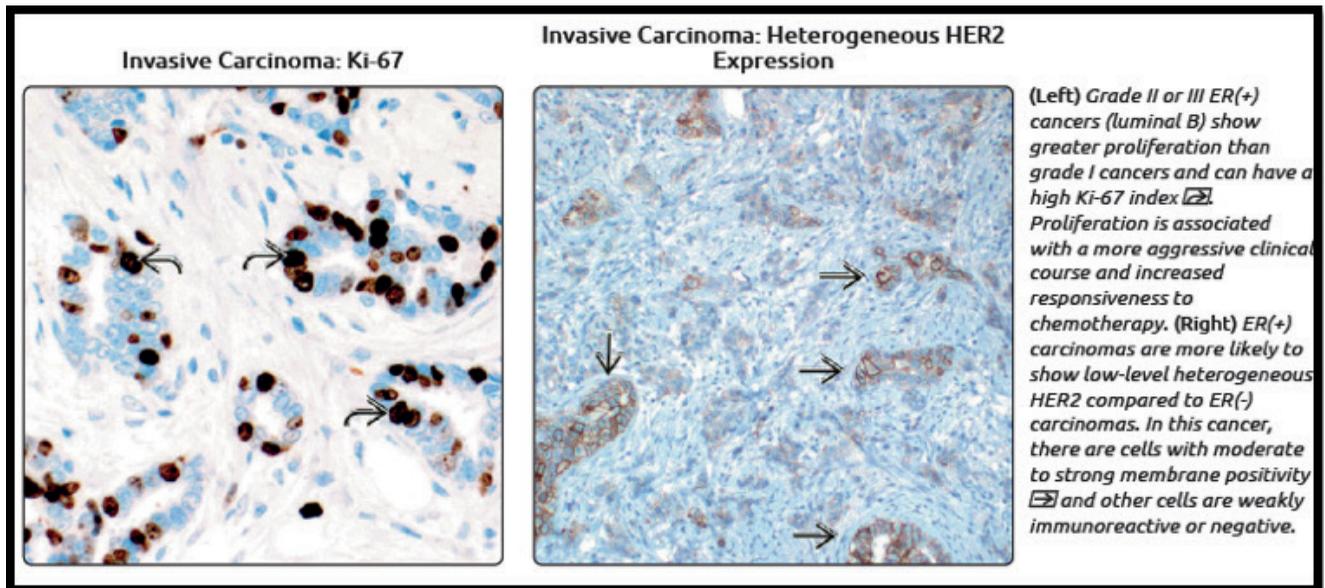
En la actualidad la utilización del Ki67 es cuestionada, ya que no hay un consenso que remarque un punto de corte para distinguir entre un ki67 alto de uno ki67 bajo. Hay distintos estudios que reconocen que a pesar de no ser claros los límites entre elevado o bajo consideran su utilidad como factor predictivo, ya que se demostró su utilidad para medir la respuesta a la quimioterapia. En cuanto a su papel como factor pronóstico,

altos niveles de expresión se asocian a mayor probabilidad de recaída en cáncer en estadios tempranos, independientemente de la afectación axilar.

En el año 2009 se publicó el primer punto de corte del Ki67 para diferenciar carcinomas Luminales A (menores de 14%) de Luminales B (mayores de 14%). En 2011 se publicaron guías de recomendación para el estudio en cáncer de mama abarcando variables pre analíticas, analíticas y de interpretación. No obstante, en el último consenso de Saint Gallen 2015, el punto de corte del 14% fue modificado, entre el 20% y el 29%: por debajo del cual considera Luminal A y por encima Luminal B.¹⁸

El Grupo de trabajo internacional del ki67 en cáncer de mama (IKWG) reunida en 2019, evaluó la evidencia actual de la validez analítica y la utilidad clínica del ki67 en el cáncer de mama. El consenso afirmó que la marcación por inmunohistoquímica del ki67 en el cáncer de mama es un marcador pronóstico, pero su utilidad clínica es clara solo para la estimación del pronóstico en pacientes que presenten receptores de estrógeno positivo y HER2 negativo ya que identifica a aquellos que no van a necesitar tratamiento adyuvante quimioterápico. En este grupo de pacientes T1-2, N0-1, el consenso de IKWG

es que un Ki67 $< 0 =$ a 5% , o $> 30\%$, se puede utilizar para estimar el pronóstico. En conclusión, la validez analítica de Ki67 IHC se puede alcanzar con una cuidadosa atención a los problemas preanalíticos y la puntuación visual estandarizada calibrada. Actualmente, la utilidad clínica de Ki67 IHC en la atención del cáncer de mama sigue estando limitada a la evaluación del pronóstico en el cáncer de mama en estadio I o II. Un mayor desarrollo de la puntuación automatizada podría ayudar a superar algunas limitaciones actuales.¹⁹



SUBTIPOS MOLECULARES:

1) Luminales:

Los tumores luminales poseen un patrón inmunofenotípico similar al componente epitelial luminal de la glándula mamaria; expresan citoqueratinas luminales, receptores estrogénicos y menos del 20% tienen mutación de p53. Estos tumores han sido tratados exitosamente con terapia hormonal antiestrogénica, siendo este el principal target del tratamiento.

Los tumores Luminales clásicamente se dividen en:

- Luminal A: Receptores hormonales positivos, Her2 negativo y Ki-67 $\leq 14\%$ ²⁰
- Luminal B: Según la 13ª Conferencia internacional de Cáncer de mama de St. Gallen y la 5ta edición de la Clasificación de tumores de

mama de la OMS 2019, los tumores luminales se clasifican en tres subtipos: Luminal B (HER-): RE + ($\geq 1\%$), RP- o $<20\%$, HER2- ($\leq 10\%$) y niveles altos de Ki-67 ($\geq 20\%$); o Luminal B(HER2 +): RE + ($\geq 1\%$), HER2 + ($> 10\%$) y cualquier nivel de RP y Ki-67.^{21,22,27}

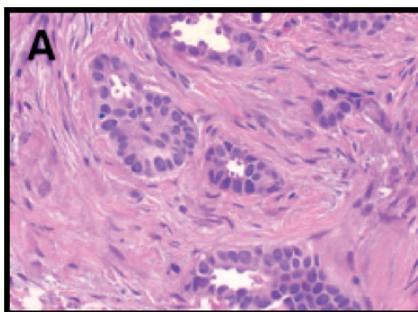
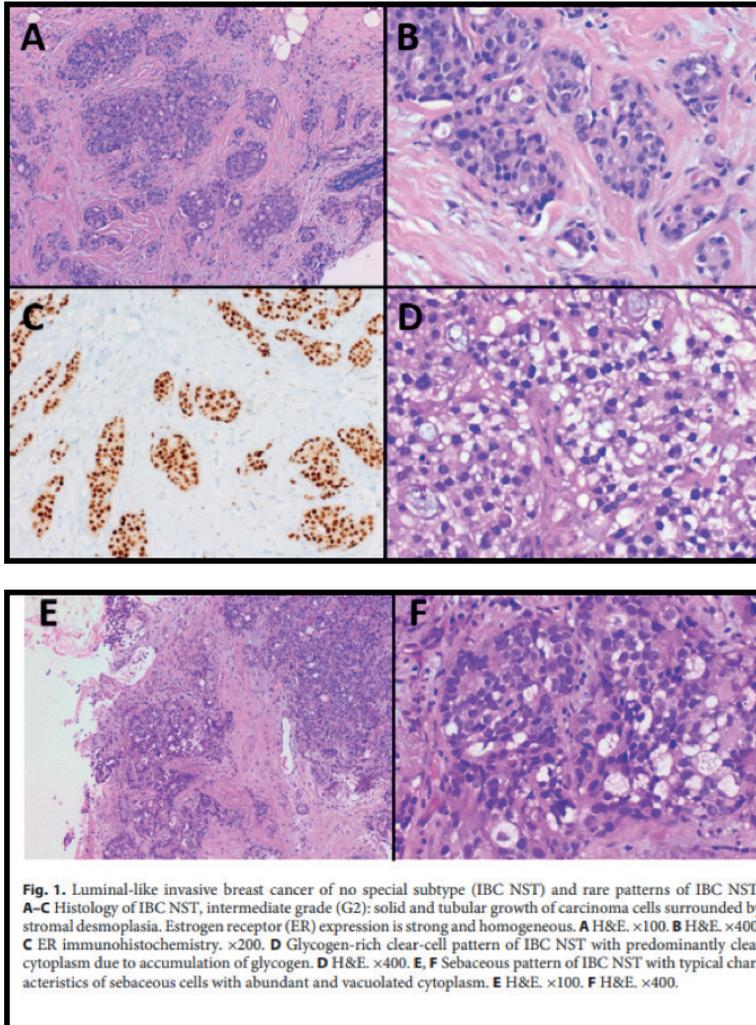
El subtipo Luminal A es el más frecuente, representa el 67% de los tumores. Tiene una alta expresión de genes relacionados con receptores hormonales, baja expresión de genes de proliferación celular y expresa citoqueratinas 8 y 18. Contrariamente, el subtipo Luminal B presenta niveles menores de receptores estrogénicos y altos niveles de genes de proliferación, comparte ciertos patrones con Luminal A y con Basal Like, incluyendo expresión de marcadores de proliferación. El subtipo Luminal B/her2 se caracteriza, además, por expresar citoqueratinas 9 y 10. A pesar de expresar receptores estrogénicos, el Luminal B tiene peor pronóstico y mayor riesgo de recaída temprana.²³

Suelen incluir la mayor parte de los carcinomas lobulillares y ductales. Aunque hay ciertas variantes histológicas especiales asociadas a este fenotipo, como por ejemplo:

- Tubular
- Lobulillar clásico
- Neuroendócrinos
- Mucinosos

Los luminal A, representan el 50% dentro de los luminales e incluyen además una amplia gama de variantes histológicas de bajo grado como: Tubular anteriormente mencionada, cribiforme, carcinoma NST de bajo grado, carcinoma lobulillar clásico. Los luminal B representa el 20%, y se asocian a grados histológicos más alto que los A. Incluyen la mayor parte de los carcinomas NST de grado 2 y carcinoma micropapilar.²⁴

En cuanto a los grados de diferenciación, los tumores luminales tienen un espectro de morfologías y grados que van desde tumores bien diferenciados compuestos por células con una histoarquitectura tubular hasta subtipos poco diferenciados con gran pleomorfismo nuclear y disposición en laminas o planchas. Sin embargo hay una distinción entre el subtipo luminal A y el B. Ya que se vio que el subtipo luminal B tiene peor pronóstico, y un aumento en las tasas de recaída en los primeros 5 años. Maisonneuve y col. analizaron la supervivencia libre de enfermedad a distancia (DDFS) en pacientes tratadas por un primer cáncer de mama primario no metastá-

Subtipo tubular²⁸

HER amplificado:

Este grupo representa el 15% al 20% de todos los cánceres de mama invasivos. Este subtipo se caracteriza por una alta expresión de HER2 ($> 10\%$), negatividad para RE ($< 1\%$) y RP ($< 20\%$), y alta expresión de Ki-67 ($> 20\%$)²⁴ Es un grupo muy heterogéneo, mas frecuentemente en mujeres premenopáusicas, asociándose a menor sobrevida libre de tumor y menor sobrevida global con recaídas tempranas. La positividad para Her2 brinda la posibilidad de un tratamiento dirigido a este blanco molecular, que son los anticuerpos monoclonales, como el trastuzumab e inhibidores de la tirosina quinasa del receptor molecular, dichos tratamiento permiten una mayor sobrevida libre de enfermedad, aún en pacientes metastásicas.⁷ La sobreexpresión de HER2 ocurre casi

sico con niveles variables de Ki67 y RP y encontró que aquellas con tumores luminales A tenían una DDFS más alta y una menor incidencia de metástasis a distancia a los 10 años en comparación con las pacientes con tumores luminales B.^{20,25,26} Los cánceres luminales B tienden a dar metástasis con mayor frecuencia en hueso y en menor grado en pulmon. Esto contrasta con el cáncer de mama luminal A, para el cual el hueso es también el principal sitio metastásico, aunque muestra una baja frecuencia de metástasis a otros sitios.²⁶ La principal diferencia en el aspecto molecular entre los dos subgrupos luminales es el aumento de la expresión de genes relacionados a la proliferación celular, como NSEP1 (elemento sensible a nucleasa proteína de unión 1) y ciclina E1 (CCNE1), además de la activación de ciertas vías alternativas de factores de crecimiento, como como PI3K (fosfatidilinositol 3-quinasa) y Src (proto-oncogén sarcoma) en tumores de mama luminal B.²⁷

exclusivamente en la variante pleomórfica del carcinoma lobulillar invasor. La amplificación del gen y la expresión elevada de la proteína HER2 se ha relacionado con tumores de mayor grado histológico, alto índice proliferativo y propensiones a la metástasis. Es frecuente su asociación con comedonecrosis, gran pleomorfismo nuclear y un citoplasma eosinofílico abundante que se disponen en cordones o nidos sólidos.^{8,27}

Hay ciertas variantes histológicas especiales relacionadas con los tumores de mama HER2/Neu amplificado:

- Carcinoma ductal de tipo no especial Grado 3
- Micropapilar
- Apocrino
- Lobulillar pleomórfico

Con respecto al subtipo micropapilar, no debemos dejar de mencionar que también es frecuente su presentación en los luminales. Histológicamente esta es constituido por nidos pequeños de células neoplásicas aglomeradas en forma de morula que observan “flotando” dentro de espacios vacíos, por la retracción del estroma. A diferencia

de la variante papilar, los carcinomas micropapilares no presentan ejes fibrovasculares. Las células que la conforman poseen un pleomorfismo moderado a alto, con cromatina nuclear granular, nucléolos evidentes, figuras mitóticas ocasionales y citoplasma moderado eosinofilo. El estroma intratumoral es desmoplásico, y pueden presentar cambios mixoides focales.

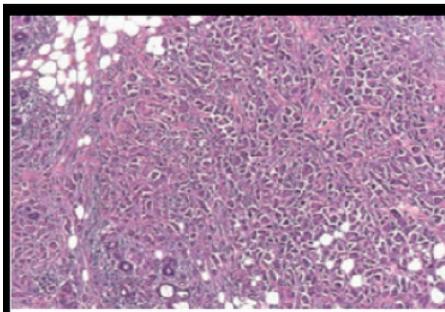


Figura 1. Patrón arquitectural característico del carcinoma micropapilar invasor, con pequeños nidos de células dentro de espacios vacíos (hematoxilina-eosina 100x).

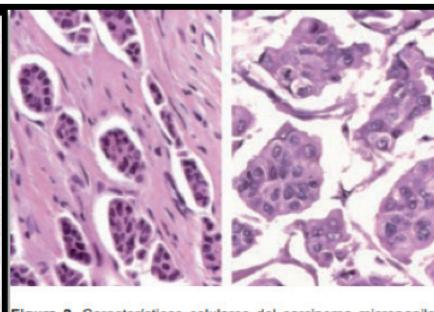
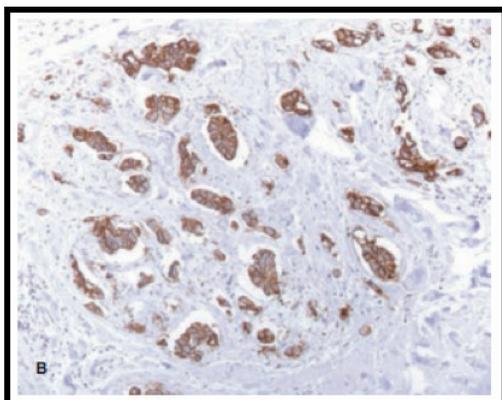
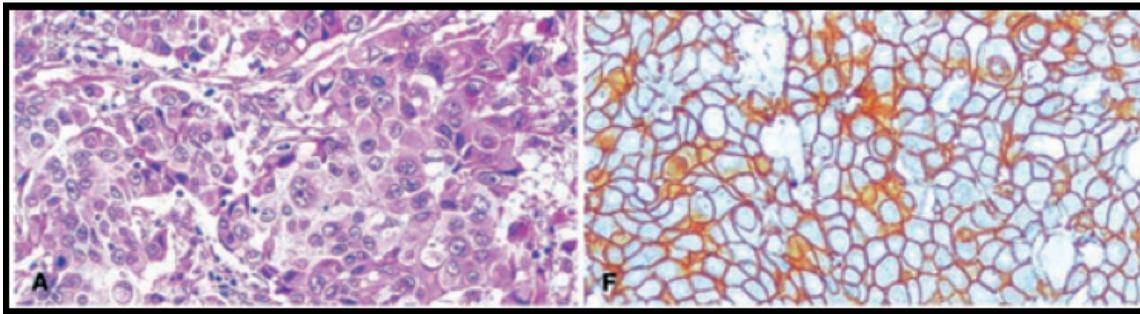


Figura 2. Características celulares del carcinoma micropapilar invasor. Se observan células “flotando” en espacios que simular linfáticos. Izquierda: grado 1 (caso 2), derecha: grado 3 (caso 7) (hematoxilina-eosina 400x).

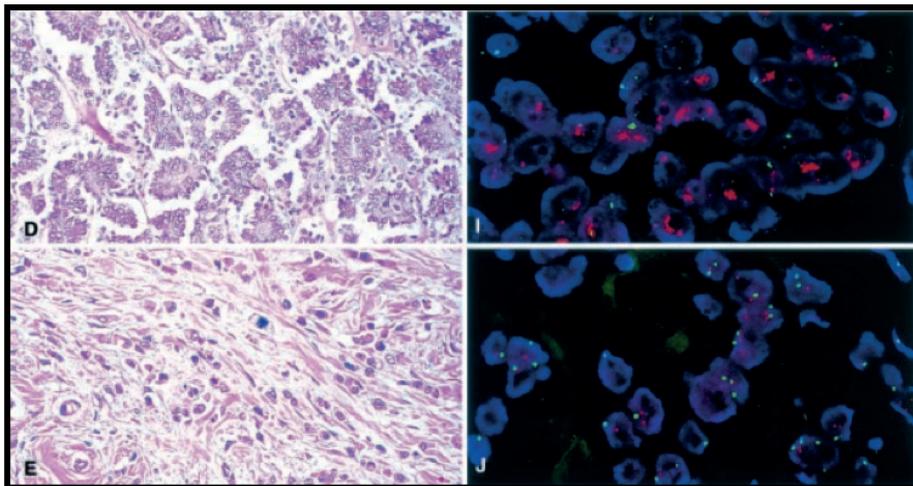


Además del aspecto histológico particular, el carcinoma micropapilar invasor tiene importante repercusión debido a su gran linfotropismo, con una frecuencia de invasión vascular linfática de 60 a 90% y metástasis a ganglios linfáticos de 66 a 93% de los casos. Esta afinidad por la diseminación linfática es independiente del porcentaje de componente micropapilar invasor y del tamaño del tumor.²⁹

La variante apocrina se caracteriza por presentar núcleos grandes y pleomorficos redondeados, con nucléolo prominente y un citoplasma eosinofilo con granulos finos, algunos pueden ser espumosos o transparentes y limites celulares muy bien definidos. Los carcinomas con apariencia apocrina focal son frecuentes, un 30% de los carcinomas no especial y no deben clasificarse como variante apocrina. Dicha proliferación se dispone formando laminas celulares sin formación de tubulos.^{30,31}



Subtipo apocrino³¹



SUBTIPO BASAL:

Subtipo basal (Basal like) Llamados “basal-like” por su expresión génica similar a la célula basal de los conductos mamarios, se definen como tumores triple negativo, es decir, negativos para receptores hormonales y Her2. (Roffo). Representan el 15% de todos los carcinomas invasores de la mama. En 2011, Lehmann y cols. analizaron el perfil de expresión génica y describieron seis diferentes subtipos dentro del cáncer de mama Triple Negativo. Sobre lo anteriormente mencionado debe entenderse al cáncer de mama Triple Negativo

como una enfermedad heterogénea, que hace evidente la necesidad de estratificar a este tipo de tumor en subtipos e identificar marcadores o blancos que puedan permitir un tratamiento dirigido.³²

1) Basal like 1: El basal like 1 expresa genes relacionados con la reparación celular, con índices de proliferación (Ki67) muy altos, mayor al 70%, y con buenas respuestas a los taxanos, cisplatinos y los inhibidores mTor.

2) Basal-like 2: Expresan genes relacionados con factores de crecimiento (EGFR y IGF1R), alto Ki67, p63 y CD10; responden a los taxanos y a los inhibidores de EGFR (lapatinib).

3) Inmunomodulador: Expresa genes relacionados con la respuesta inmune; son los carcinomas medulares y responden a los inhibidores de agentes reparadores de la poly ADP- ribosa polimerasa (PARP), el olaparib y veliparib.

4) Mesenquimático: Expresa genes relacionados con la motilidad y diferenciación celular. Son los carcinomas metaplásicos y responden a los inhibidores de la mTor (basatinib).

5) Mesenquimático stem-like.

6) Luminal receptor androgénico: (LAR) que expresan receptores relacionados con receptores de andrógenos y CK luminales y basales. Son los carcinomas apocrinos y responden a antagonistas de andrógenos como la bicalutamida.³²

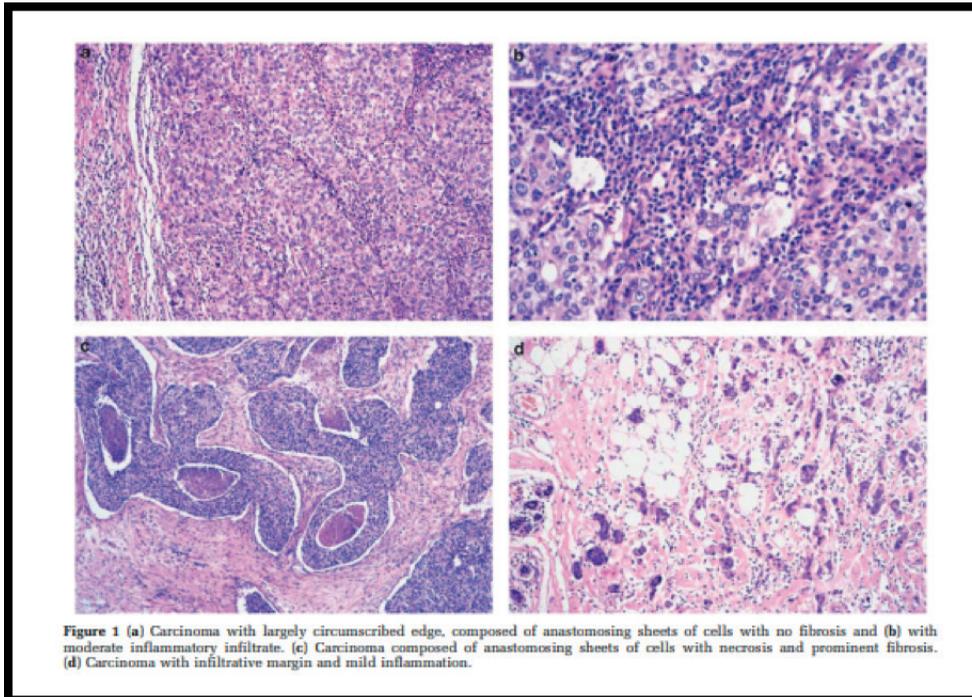
Aunque la mayoría (alrededor del 80%) de los casos de cáncer de mama triple negativo se clasifica como el subtipo basal, estos términos no son sinónimo, ya que sólo el 46% de los tumores de tipo basal son triples negativo.³³

Se presentan en mujeres premenopausicas, etnia afroamericana y descendencia hispana. Otros factores de riesgo son pacientes obesas, con menarca precoz y muchas de ellas se asocian a la mutación del BRCA1 y BRCA2.^{34,35} Algunos estudios sugieren que su presentación suele ser clínica más que mamográfica debido a su rápido crecimiento. Suelen aparecer en el intervalo entre mamografías, lo que le vale el nombre de “cáncer del intervalo” Tienen un mal pronóstico, ya que en general se presentan en estadios más avanzados con los subtipos luminal o her2/neu y presentan mayor compromiso visceral y del sistema nervioso central, esto se debe a su gran capacidad de diseminación por vía hematogénica (metástasis pulmonares y cerebrales). Entre el primer y tercer año de diagnóstico suele haber más riesgo de recurrencia y mayor mortalidad en los primeros cinco años después del tratamiento.³⁶

Si bien histológicamente la gran mayoría de los casos está representado por el carcinoma ductal infiltrante o de tipo no usual, hay un porcentaje de otros subtipos histológicos relativamente raros como el carcinoma metaplásico, carcinoma medular, carcinoma apocrino, adenoide quístico. Los subtipos histológicos tienen distintas características clínico - patológicas y por lo tanto de supervivencia a largo plazo, lo que nos evidencia que se puede haber distintas entidades biológicas dentro de los triples negativos.³⁷ Otras características histológicas relevantes son la presencia de un alto índice mitótico, con escasa formación de tubulos y marcado pleomorfismo nuclear, es decir un alto grado histológico, un patrón en la cromatina nuclear gruesa o vesicular con nucléolo prominentes, un subgrupo presenta una alta a moderada cantidad de infiltrado linfocitario peritumoral (TILs) la cual ha demostrado tener mejor pronóstico, grandes zonas de necrosis geográfica y escaso estroma interpuesto. Ocasionalmente, estos tumores también contienen áreas de células fusiformes y escamosas metaplasias.³⁸

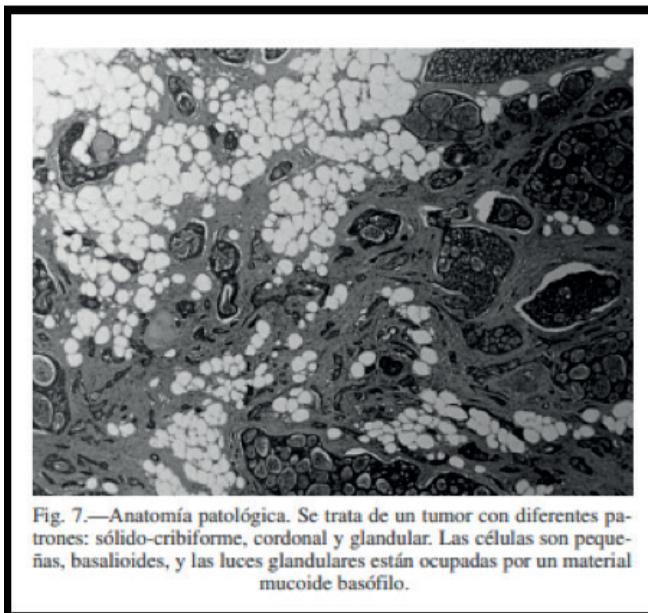
En cuanto a los distintos subtipos histológicos dentro de los triples negativos: el carcinoma metaplásico es poco frecuente se caracteriza por presentar tumores de mayor tamaño en relación a los triple negativos de tipo no especial con un mayor grado histológico y alta expresión de ki-67, el 50% desarrollaron metástasis locales o distantes dentro de los 5 años posteriores a la cirugía.³⁹ Lien y col. encontraron que los marcadores genéticos relacionados con la transición epitelial-mesenquimatosa estaban regulados positivamente de manera diferencial en el carcinoma metaplásico en comparación con el carcinoma ductal invasivo.⁴⁰ Hennessy et al. también encontraron que los marcadores relacionados con células madre estaban enriquecidos en el carcinoma metaplásico, lo que hace que el carcinoma metaplásico tenga más probabilidades de comportarse de manera agresiva que el carcinoma ductal infiltrante. Esto puede explicar las características específicas de la enfermedad y el mal pronóstico del carcinoma metaplásico.⁴¹

El carcinoma medular, tiene un mejor pronóstico con respecto a los otros subtipos. Esto puede estar asociado a los perfiles de expresión génica, hay diferentes estudios que muestran una base biológica para su buena evolución, como por ejemplo: Vincent-Salomon y col. Mostraron que la citoqueratina 5/6 se expresaba con mayor frecuencia en el carcinoma medular y Bertucci y col. Informaron que su buen pronóstico se debía a la expresión de factores inhibidores de la metástasis y disminución de la expresión de factores promotores de metástasis. Además histológicamente el subtipo medular presenta una gran respuesta inflamatoria, ausencia de fibrosis, presencia de lámi-



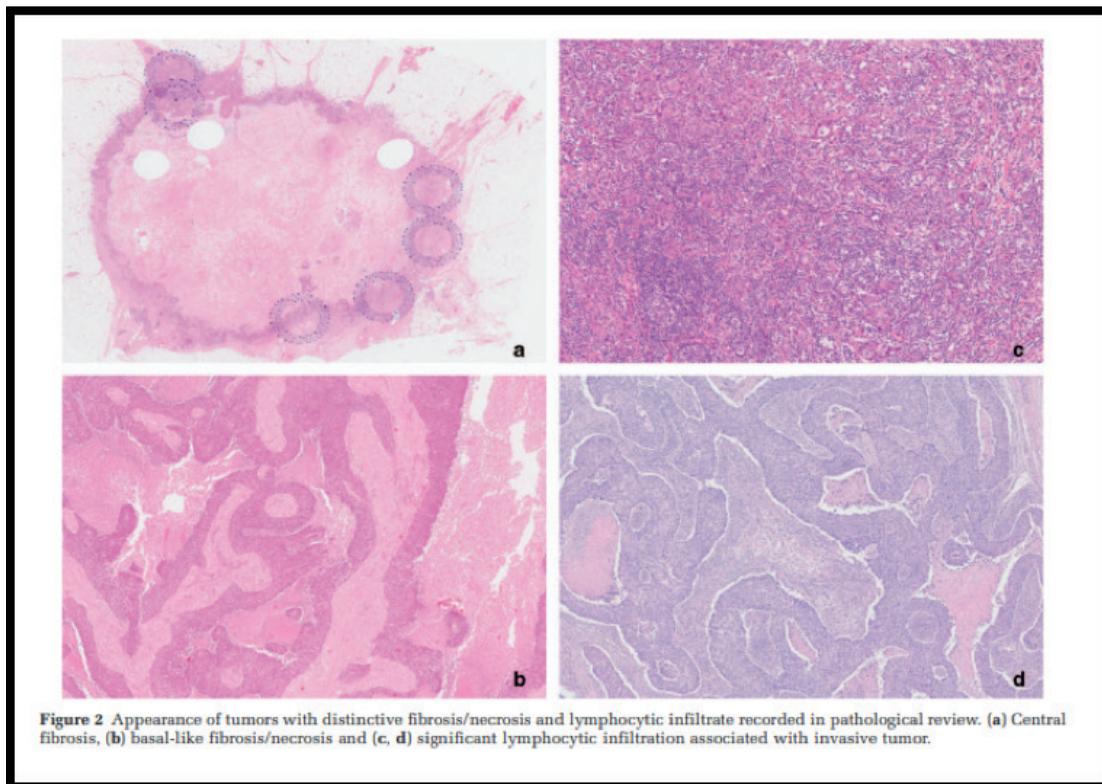
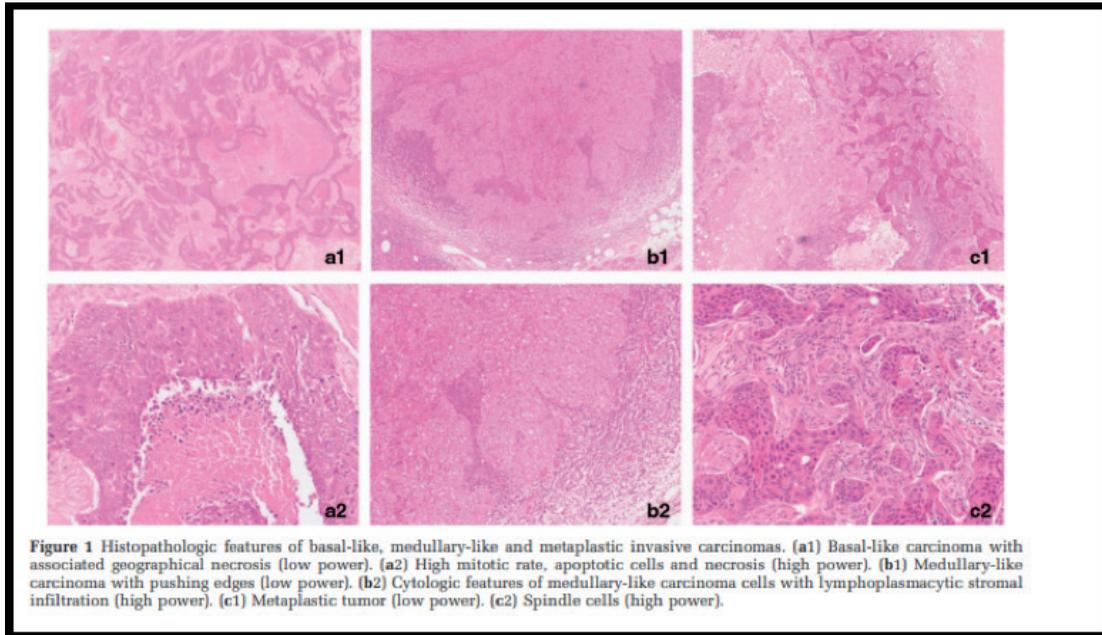
nas anastomosadas, no se observa formación de glándulas, ni margen infiltrativo. La inflamación prominente y las láminas anastomosadas en al menos el 30% del tumor se asociaron con un mejor pronóstico.⁴²

En cuanto a la variante apocrina se vio que se presentaba en edades más avanzadas en comparación con las otros subtipos, además eran bien a moderadamente diferenciados por lo que sugiere pueden ser menos agresivos.⁴⁰



Por último, el subtipo adenoide quístico, suele aparecer en mujeres postmenopausicas, como una masa palpable de lento crecimiento. Este tumor comparte características anatomopatológicas con los tumores adenoide quísticos ubicados en otras regiones del cuerpo. Hay distintos patrones de crecimiento: glandular, tubular y sólido o basaloide. Histológicamente está conformado por células de estirpe mioepitelial y del epitelio glandular ductal modificadas de pequeño diámetro con núcleos compactos e hiper cromáticos y escaso citoplasma, entre las células hay un material hialino. Esta variante suele tener un buen pronóstico, aunque las tasas de supervivencia no fueron significativamente distintas en comparación con el carcinoma ductal infiltrante.^{43,44}

Es importante aclarar que no todos los cánceres Basal like son triples negativos, ni todos los triples negativos son basal like (carcinoma adenoide quístico, lobullillar pleomórfico, apocrino, etc), por eso siempre hay que correlacionar con los hallazgos morfológicos histopatológicos y no solamente apoyarse en el fenotipo.⁴⁶



Subtypes of Invasive Ductal Carcinoma				
Feature	ER(+)/HER2(-) (Luminal A)	ER(+)/HER2(+/-) (Luminal B)	ER(-)/HER2(+) (HER2 Enriched)	ER(-)/HER2(-) (Basal)
% of breast cancers	55%	15%	15-20%	10-15%
Grade	Grade I or II	Grade II or III	Grade II or III	Usually grade III
Special histologic types in this group	Tubular, cribriform, papillary, mucinous, grades I and II lobular	Grade III lobular, many micropapillary, apocrine (~50%)	Apocrine (~50%)	Carcinomas with medullary features, adenosquamous*, secretory*, adenoid cystic*, spindle cell, metaplastic
Estrogen receptor	Positive: High	Positive: May be low	Negative	Negative
Progesterone receptor	Usually positive	May be low or negative	Negative	Negative
HER2	Negative	~50% positive	Positive	Negative
Proliferation	Low	High	High	High
Basal cytokeratins or EGFR	Absent or low	Absent or low	May be present	40-85%
Luminal cytokeratins (CK7, 8/18, 19)	~100%	~100%	High	~85%
Extensive associated DCIS	~15%	~25%	~30%	~10%
Lymph node metastases	~45%	~50%	~60%	~45%
Lymph-vascular invasion	~40%	~50-60%	~50%	~40%
> 4 positive nodes	~10%	~20%	~30%	~15%
Common genomic changes	Low level of instability, deletion 16q and gain 1q (80%), <i>PIK3CA</i> mutations (~35%), <i>TP53</i> mutations rare	Complex genomic changes, genetic instability, deletion 16q and gain 1q (50%), may have <i>TP53</i> mutations	Amplification of <i>HER2</i> and surrounding genes, may have <i>TP53</i> mutations	Highly unstable, loss of function of DNA repair genes, majority have <i>TP53</i> mutations
Complete response to chemotherapy	< 10%	HER2(-) ~ 10%, HER2 positive ~ 15%	> 30%	~ 30%
Peak age	70	70	60	50
Time to recurrence	May be > 10 years	Short, < 10 years	Short, < 10 years	Short, < 5 years
Survival with metastases	Often years	Variable	Variable	Usually very short
Prognosis	Favorable	Less favorable (improved with HER2-targeted therapy in positive cancers)	Unfavorable (but improved with HER2-targeted therapy)	Unfavorable (but subset will have good response to chemotherapy)
Systemic therapy	Majority benefit from hormonal treatment; benefit from chemotherapy less clear	May benefit from both hormonal therapy and chemotherapy	Benefit from chemotherapy and HER2-targeted therapy	Subset benefits from chemotherapy
Metastatic sites	Bone (70%), liver or lung (25%), brain (< 10%); survival with metastases possible	Bone (79%), liver or lung (30%), brain (10-15%)	Bone (60%), liver or lung (45%), brain (30%); long survival with metastases uncommon	Bone (40%), liver or lung (35%), brain (25%); long survival with metastases uncommon
Common patient characteristics	Older age, screen-detected cancers, associated with hormone replacement therapy	Younger age, <i>BRCA2</i> carriers, <i>TP53</i> carriers ([if HER2(+)])	Relatively more common in young women and Asian women	Relatively more common in young women, more common in African American and Hispanic women, <i>BRCA1</i> carriers

*These basal-type carcinomas have a favorable prognosis, unlike the other members of this group.

III. CONCLUSIÓN

Podemos concluir que, a pesar de los avances en las diferentes técnicas de biología molecular, la inmunohistoquímica es un reflejo considerable y aplicable para nuestro medio, especialmente en el estudio del cáncer de mama. El informe de anatomía patológica en conjunto con la inmunohistoquímica nos permite clasificar al cáncer de mama en subtipos moleculares, y en consecuencia ayudar a los oncólogos y mastólogos en la elección de un tratamiento personalizado para cada paciente. No debemos olvidar, como patólogos la importancia en la correlación entre la histológica y la biología molecular, esto requiere de un entrenamiento, estudio y práctica de la inmunohistoquímica además de un correcto procesamiento de la muestra.

REFERENCIAS

1. Globocan, 2018, Freddie Bray, BSc, MSc, PhD1 ; Jacques Ferlay, ME2 ; Isabelle Soerjomataram, MD, MSc, PhD3 ; Rebecca L. Siegel, MPH4 ; Lindsey A. Torre, MSPH5 ; Ahmedin Jemal, PhD, DVM6, CA CANCER J CLIN 2018;0:29–31 ◀
2. Instituto Nacional del Cancer. Ministerio de Salud de la Nacion. Estadísticas- Incidencia y Mortalidad. ◀
3. Francisco E. Gago. Clasificación Molecular del Cáncer de Mama. Revista Argentina de Mastología, 2013. Volumen 36, N° 115 ◀
4. Charles M. Perou, Therese Sùrlie, Michael B. Eisen et al. Molecular portraits of human breast tumours. Nature. 2000 August 17; 406. ◀
5. Alfredo Hidalgo-Miranda, Gerardo Jiménez-Sánchez. Bases genómicas del cáncer de mama: avances hacia la medicina personalizada. Salud Publica Mexico. 2009;51 supl 2:S197-S207. ◀
6. Diego L Jorge Buys, César O Lara Torres, Carlos Ortiz Hidalgo. Interpretación básica de inmunohistoquímica. Características generales de diversos anticuerpos y su localización celular y subcelular . Patología Revista latinoamericana. Volumen 45, núm. 3, 2007 ◀
7. Zaha DC. Significance of immunohistochemistry in breast cancer. World J Clin Oncol 2014; 5(3): 382-392. ◀◀◀
8. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Breast tumours. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2019. 5th ed.; vol. 2 pag: 83-84 ◀◀◀
9. E.García Toro MD. HACIA UNA CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CÁNCER DE MAMA Servicio de Anatomía Patológica. Complejo Asistencial de Burgos. España. Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2008;1:72-76. ◀
10. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, 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. ◀
11. Pautas en oncología: Diagnóstico, tratamiento y seguimiento del cancer. Instituto de Oncología Angel H. Roffo. Universidad de Buenos Aires. 2018. ◀
12. Maria Dolors Sabadell Mercadal, Maxim Izquierdo Sanz, Miguel Prats de Puig, Alfonso Modolell Roig. Factores pronosticos y predictivos en cancer de mama. Una vision evolutiva de la morfologia a la genetica. Fundacion Española de Senologia y Patologia Mamaria.2017 ◀◀◀◀
13. Allison KH, Hammond MEH, Dowsett M, McKernin SE, Carey LA, Fitzgibbons PL, Hayes DF, Lakhani SR, Chavez-McGregor M, Perlmutter J, Perou CM, Regan MM, Rimm DL, Symmans WF, Torlakovic EE, Varella L, Viale G, Weisberg TF, McShane LM, Wolff AC. Estrogen and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer: ASCO/CAP Guideline Update. J Clin Oncol. 2020 Apr 20;38(12):1346-1366.. Epub 2020 Jan 13. ◀
14. Hammond M.E.H., Hayes D.F., Wolff A.C., Mangu P.B., Temin S. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. J. Oncol. Pract. 2010;6:195–197. ◀
15. Ross, D.S., Zehir, A., Brogi, E. et al. Immunohistochemical analysis of estrogen receptor in breast cancer with ESR1 mutations detected by hybrid capture-based next-generation sequencing. Mod Pathol 32, 81–87 (2019). ◀◀
16. Dowsett M, Nielsen TO, A'Hern R, Bartlett J, Coombes RC, Cuzick J, Ellis M, Henry NL, Hugh JC, Lively T, McShane L, Paik S, Penault-Llorca F, Prudkin L, Regan M, Salter J, Sotiriou C, Smith IE, Viale G, Zujewski JA, Hayes DF; International Ki-67 in Breast Cancer Working Group. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group. J Natl Cancer Inst. 2011 Nov 16;103(22):1656-64. Epub 2011. ◀
17. Mariana Panal Cusati, Maria Herrera de la Muela, David Hardisson Hernaez, Milagros Choqueneira Dionisio, Ana Roman Guindo, Francisco Javier de Santiago Garcia. Correlación entre la expresión de Ki67 con factores clásicos pronósticos y predictivos en el cáncer de mama precoz. Journal of Breast Science. Diciembre 2014. Vol. 27. Num 4. pag. 163-169 ◀
18. Programa Nacional de Consensos Inter-Sociedades. Programa Argentino de Consensos de Enfermedades Oncológicas. Factores pronósticos y predictivos en cáncer de mama temprano Consenso nacional inter-sociedades Mayo de 2016 ◀

19. Torsten O Nielsen, Samuel C. Y Leung, David L Rimm, Andrew Dodson, Balazs Acs, Sunil Badve, Carten Denkert et al. Assessment of Ki67 in Breast Cancer: Updated Recommendations From the International Ki67 in Breast Cancer Working Group. *JNCI J Natl Cancer Inst* (2021) 113 (7) ◀
20. Gao JJ, Swain SM. Luminal A Breast Cancer and Molecular Assays: A Review. *Oncologist*. Epub 2018 May;23(5):556-565. ◀◀
21. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, 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. ◀
22. Łukasiewicz S, Czezelewski M, Forma A, Baj J, Sitarz R, Stanisławek A. Breast Cancer-Epidemiology, Risk Factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies-An Updated Review. *Cancers (Basel)*. 2021 Aug 25;13(17):4287. ◀
23. Ornella Sturla, Celeste Frascaroli, Natalia Santiso, María Luján Crosbie, Anabela Ursino, Alicia Amato, Mirta Calissano. Luminal B. Factor pronóstico y predictivo del Ki67. *Revista Argentina de Mastología*, 2018, volumen 36 ,Nº 133 ◀
24. Makki, Jaafar. "Diversity of Breast Carcinoma: Histological Subtypes and Clinical Relevance." *Clinical medicine insights*. Pathology vol. 8 23-31. 21 Dec. 2015. ◀◀
25. Maisonneuve P, Disalvatore D, Rotmensz N, Curigliano G, Colleoni M, Dellapasqua S, et al.. Proposed new clinico-pathological surrogate definitions of luminal A and luminal B (HER2-negative) intrinsic breast cancer subtypes. *Breast Cancer Res*. 2014 Jun 20;16(3) ◀
26. Felipe Ades, Dimitrios Zardavas, Ivana Bozovic-Spasojevic, Lina Pugliano, Debora Fumagalli, Evandro de Azambuja, et al. Luminal B Breast Cancer: Molecular Characterization, Clinical Management, and Future Perspectives. *Journal of Clinical Oncology* 32, no. 25 (2014) 2794-2803. ◀
27. Britta Weigelta , Felipe C. Geyerb , Jorge S. Reis-Filhob, Histological and molecular classification of breast cancer: what do we know? a Cancer Research UK, London Research Institute. (2010) 192-208 ◀◀◀
28. Erber R, Hartmann A. Histology of Luminal Breast Cancer. *Breast Care (Basel)*. 2020 Aug;15(4):327-336. ◀
29. Álvaro Lezid Padilla Rodríguez. Carcinoma micropapilar invasor, una variante agresiva de carcinoma de glándula mamaria. Revisión a propósito de 12 casos. *Revista latinoamericana de patología*. *Patología* 2008;46(3):215-21 ◀
30. David G. Hicks and Susan C. Lester. *Diagnostic Pathology : Breast*. Elsevier. Second edition, 2016. ◀
31. Z Varga, J Zhao, C O" hlschlegel, B Odermatt & P U Heitz Preferential .HER-2/neu overexpression and/or amplification in aggressive histological subtypes of invasive breast cancer. Department of Pathology and Institute of Clinical Pathology, University Hospital Zurich, Zurich, and Institute of Pathology, Cantonal Hospital St Gallen, St Gallen, Switzerland. ◀
32. María S. Orban Frontini, Ana L. Ulloa Bevacqua, Claudia P. Arias et al. Cáncer de mama Triple Negativo: evaluación de características clínico-patológicas y factores pronósticos. *Revista Argentina de Mastología*, 2017, volumen 3, Nº 130. ◀
33. Matthew N. Mills, George Q. Yang, Daniel E. Oliver a , Casey L. Liveringhouse, Kamran A. Ahmed, Histologic heterogeneity of triple negative breast cancer: A National Cancer Centre Database analysis. *European Journal of Cancer*, July 2018, volumen 98 Pages 48-58. ◀
34. Dr. Luciano F. Cassab. Triple negativos en cancer de mama: un perfil diferente. *Revista Argentina de Mastología* 2015; 34(122): 4-6 ◀
35. Fresia Pareja , Felipe C Geyer , Caterina Marchiò, Kathleen A Burke, Britta Weigelt and Jorge S Reis-Filho. Triple-negative breast cancer: the importance of molecular and histologic subtyping, and recognition of low-grade variants. *Nature. NPJ Breast cancer*. 16 November 2016. 16036 ◀
36. Patrycja Gazinska, Anita Grigoriadis, John P Brown, Rosemary R Millis, Anca Mera, Cheryl E Gillett et al. Comparison of basal-like triple-negative breast cancer defined by morphology, immunohistochemistry and transcriptional profiles. *Mod Pathol*. 2013 Jul; 26: 955-66 ◀
37. Hubalek M., Czech T., Muller H., Biological subtypes of triple-negative Breast cancer., *Breast Care*. 2017; 12: 8-14 ◀
38. Gazinska P, Grigoriadis A, Brown JP, Millis RR, Mera A, Gillett CE, Holmberg LH, Tutt AN, Pinder SE. Comparison of basal-like triple-negative breast cancer defined by morphology, immunohistochemistry and transcriptional profiles. *Mod Pathol*. 2013 Jul;26(7):955-66. ◀

39. Hong-Ye Liao¹, Wen-Wen Zhang², Jia-Yuan Sun², Feng-Yan Li², Zhen-Yu He^{2*}, San-Gang Wu³. The Clinicopathological Features and Survival Outcomes of Different Histological Subtypes in Triple-negative Breast Cancer. *Journal of cancer*, 2018, 9(2), 296–303. ◀
40. Lien HC, Hsiao YH, Lin YS, et al. Molecular signatures of metaplastic carcinoma of the breast by large-scale transcriptional profiling: identification of genes potentially related to epithelial-mesenchymal transition. *Oncogene*. 2007;26(57):7859-71 ◀
41. Hennessy BT, Gonzalez-Angulo AM, Stemke-Hale K, et al. Characterization of a naturally occurring breast cancer subset enriched in epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell characteristics. *Cancer Res*. 2009;69(10):4116-24. ◀
42. Felicia Marginean, Emad A Rakha, Bernard C Ho, Ian O Ellis, Andrew HS. Histological features of medullary carcinoma and prognosis in triple-negative basal-like carcinomas of the breast. Department of Histopathology, Nottingham University Hospitals, Nottingham, UK. *Modern Pathology* (2010) 23. ◀
43. de Luis E, Apesteguía L, Noguera JJ, Pina L, Martínez-Regueira F, Miguel C, Sáenz J. Carcinoma adenoide quístico de mama. *Revista Radiología. Universidad de Navarra*. 2006 Jul-Aug;48(4):235-40. ◀
44. Gazinska P, Grigoriadis A, Brown JP, et al. Comparison of basal-like triple-negative breast cancer defined by morphology, immunohistochemistry and transcriptional profiles. *Mod Pathol*. 2013 Jul;26(7):955-66. ◀

DEBATE

Dr. Uriburu: Muy prolijo su análisis, felicitaciones. Me permito hacer un comentario, un aporte y de paso respondo al Dr. París que preguntaba acerca del estudio del HER-2, que él dice que parece que es tan frecuente. En realidad es lo que nos parecía a nosotros y nuestros números no dio tanto. En el Servicio de Mastología del Hospital Británico de Bs. As. hicimos la experiencia sobre el patrón de recurrencia local según el perfil de inmunohistoquímica. No analizamos otros factores, como usted analizó, el margen, la edad, si no lo que pasaba con el perfil de inmunohistoquímica. Usted lo mostró en la bibliografía. Tuvimos una tasa de 9.5% de recaídas, similar a lo que presentaron ustedes. En cuanto a la sobreexpresión del HER-2, que me adelanto, lo hacemos en forma investigacional, no en forma asistencial, desde ya que no, porque tenemos el recurso. Pensábamos que era más, porque siempre se ve que se sobreexpresa el HER-2 en el in situ. En nuestra casuística un tercio lo sobreexpresó, pero dos tercios no. Pero sí fue interesante y significativo ver que era mayor la incidencia de recaídas en los que sobreexpresaban el HER-2. Recaían 4 veces más los que expresaron el HER-2. Esta sobreexpresión del HER-2 a su vez estaba asociada a mayor porcentaje de casos con receptores estrogénicos negativos o con Ki67 elevada. Otros factores también, aunque no tan estadísticamente significativos, pero también de riesgo de mal pronóstico en cuanto a la posibilidad de recaída. Así como usted bien dijo, los grados altos recayeron más que los bajos, aunque tal vez no se haya podido ver la diferencia significativa. Pero también fue interesante ver que dentro de los grados altos, recayeron más significativamente, los que sobreexpresaban el HER-2 que los que no. Así que no debería preguntarle sobre esto porque no lo han incluido en su estudio pero aunque sea su opinión al respecto sobre el HER-2.

Dra. Perazzolo: Si bien cuando hicimos la base de datos fue incluido, debido a que la mayor cantidad

de las pacientes no lo tenían informado, porque no lo organizamos de rutina, como usted bien decía, en las biopsias, es por eso que como no teníamos un n significativo, no lo incluimos directamente en el trabajo.

Dr. Billinghamurst: Todos tenemos una gran satisfacción cuando operamos un carcinoma intraductal in situ porque en general sabemos que la paciente va a andar bastante bien. No me cierra una cosita en el slide 18 de la doctora, que dice que el riesgo de recurrencia local de las pacientes con tumorectomía y radioterapia era del 12% y de la mastectomía era del 1%. Después hicieron cirugía conservadora en el 88% y en 12% mastectomía, pero sin embargo, la recurrencia local fue del 11% en la mastectomía y del 9% en la cirugía conservadora, todo en el mismo diapositivo. No me cierra que si 3 renglones arriba dijiste que la recurrencia era del 1% en la mastectomía cómo después da del 11%.

Dr. Uriburu: ¿Capaz que faltó la coma?

Dra. Perazzolo: No, lo que mencionaba en la diapositiva, que si no lo puedo volver a mostrar, es lo que reporta la bibliografía, lo que está descrito en la literatura y abajo mostramos nuestros resultados. Lo que está descrito si es del 12% para la tumorectomía con radioterapia y del 1% y nuestra tasa fue del 9.3% para la tumorectomía y del 11.7% para la mastectomía.

Dr. Billinghamurst: Qué raro que en la mastectomía le haya ido tan mal siendo que el in situ es lo más radical.

Dra. Perazzolo: Sí, en general nos da un número bastante elevado pero fueron solamente 2 pacientes. Lo que pasa que al realizar el porcentaje el número parece mucho más que el de las tumorectomías con radioterapia.

Dr. Billinghamurst: No es significativo el n para poder sacar conclusiones.

Dra. Perazzolo: Exactamente.

Dr. Fuleston: Muy lindo el trabajo, te felicito. Creo que ya está contestada, pero quería saber qué porcentaje de in situ bilateral habían tenido en la otra rama, creo que dijiste 3, que los excluyeron y de todos los casos en los que hicieron centinela, ya sea porque hicieron mastectomía o porque la presentación era nódulo palpable o la indicación que fueran a conservadora, que le hicieron centinela, si tuvieron en algún caso centinela positivo.

Dra. Perazzolo: No, no observamos ningún caso de centinela positivo tanto en la cirugía conservadora como en la mastectomía.

Dr. Ciocca: Antes que nada felicitaciones por el trabajo. Una pequeña pregunta, no sé si viene al caso, pero ustedes analizaron muy bien el índice o el porcentaje de recaída local con un margen mayor a 1 mm por que es la mayoría de los informes lo que tenían en el CEMIC, pero me pregunto si después hicieron un subanálisis de cuántas de esas recaídas tenían un margen mayor a los 2 mm

teniendo en cuenta que es lo que se acepta hoy en realidad. Me pregunto si tomaron en consideración ese dato, es decir, bueno tuvimos estas recaídas con márgenes mayores a 1 mm y estas otras recaídas con márgenes mayores a los 2 mm.

Dra. Perazzolo: Sí, específicamente luego del año 2017 que fue cuando más o menos se empezó a implementar los márgenes de 2 mm, a partir de ahí solo hubieron transrecurrencias de las cuales dos fueron con márgenes mayores a los 2 mm.

Dr. Ciocca: Es decir que uno podría inferir de que cuando tengo márgenes mayores es menor la posibilidad de una recaída local.

Dra. Perazzolo: Exactamente.

Dr. Ciocca: Bien, era solamente para saber qué experiencia habían tenido nada más, la felicito por su trabajo.

Dr. Uriburu: Muchas gracias a todos.