

Características inmunohistoquímicas del cáncer de mama: ¿hacia una nueva clasificación?

Antonio Piñero-Madrona^a, Luis Polo-García^b, José Luis Alonso-Romero^c, Juan Salinas-Ramos^d, Manuel Canteras-Jordana^e, Joaquín Sola-Pérez^b, Pedro J. Galindo-Fernández^a, Julián Illana-Moreno^a, Juan Bermejo-López^b, Agustín Navarrete-Montoya^c y Pascual Parrilla-Paricio^a

^aServicio de Cirugía General. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. El Palmar. Murcia. España.

^bServicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. El Palmar. Murcia. España.

^cServicio de Oncología Médica. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. El Palmar. Murcia. España.

^dServicio de Oncología Radioterápica. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. El Palmar. Murcia. España.

^eDepartamento de Bioestadística. Facultad de Medicina. Universidad de Murcia. Murcia. España.

Resumen

Introducción. El objetivo de este trabajo es determinar la posible asociación de cinco perfiles diferentes de expresión inmunohistoquímica con variables clínicas, histopatológicas e inmunohistoquímicas de conocido valor pronóstico en el cáncer de mama.

Material y método. Se estudiaron 194 muestras de carcinoma ductal infiltrante de mama. Se definieron 5 perfiles inmunohistoquímicos basados en la expresión de receptores hormonales (estrogénicos o de progesterona) y/o Her2neu (luminal A, luminal B, mixto, Her2neu y triple negativo) y se estudió si había diferencias entre ellos en relación con variables clínicas, histopatológicas e inmunohistoquímicas de conocido valor pronóstico.

Resultados. En la serie se encontraron 134 (69%) casos correspondientes a un inmunofenotipo luminal, de los que 98 (50,5%) fueron del grupo luminal A y 36 (18,6%) del luminal B; 29 (15,9%) casos fueron triples negativos, en 18 (9,3%) se daba un tipo mixto y en 13 (6,7%), del tipo Her2neu. Destaca la relación entre los inmunofenotipos triple negativos y Her2neu con formas histológicas peor diferenciadas (el 62 y el 60%, respectivamente) y del grupo luminal A con tumores bien diferenciados ($p = 0,008$). La expresión de ki67 fue mayor en el grupo triple negativo (73,9%) y baja en el luminal A (26,3%) ($p = 0,001$). La expresión de p53 también fue mayor para los grupos Her2neu (55,5%) y triple negativo (60,8%) ($p = 0,0005$) respecto a los otros.

Conclusiones. Los subgrupos sin expresión de receptores hormonales, con sobreexpresión de Her2neu

o sin ella (triple negativo) presentan características asociadas con variables de peor pronóstico. La pérdida de expresión de receptores a progesterona también parece asociarse con ellas.

Palabras clave: Cáncer de mama. Receptores hormonales. Her2neu. Inmunohistoquímica. Receptores estrogénicos. Receptores de progesterona.

IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISATION OF BREAST CANCER: TOWARDS A NEW CLASSIFICATION?

Background. The aim of this paper is to determine the possible association between five different profiles of immunohistochemical expression related to clinical, histopathological and immunohistochemical known prognostic value variables for breast cancer.

Material and method. A total of 194 breast carcinoma tumour samples were studied. In this study five groups or immunohistochemical profiles were defined, based on expression of hormone receptors (oestrogen or progesterone) and/or Her2/neu (luminal-type A, luminal-type B, mixed profile, Her2/neu profile and triple-negative-type profile) and we studied whether there are differences between them with regard to clinical, histopathological and immunohistochemical variables that have a known prognostic significance.

Results. In the series we found 134 (69%) cases corresponding to a luminal immunophenotype, of which 98 (50.5%) were from the luminal A group and 36 (18.6%) from luminal B. Twenty-nine cases (15.9%) were triple-negative, 18 (9.3%) mixed and 13 (6.7%) Her2/neu type. It is worth noting the relationship between the triple-negative and Her2/neu immunophenotypes and the more poorly differentiated histological forms (62% and 60%, respectively) and between the luminal A group and well-differentiated tumours ($p = 0.008$). Expression of ki67 was high in the triple-negative group (73.9%) and low in the luminal A

Correspondencia: Dr. A. Piñero Madrona.

Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo I. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca.

Ctra. Madrid-Cartagena, s/n. 30120 El Palmar. Murcia. España.

Correo electrónico: antonio.pinero@carm.es;

antonio.pinero@ono.com

group (26.3%; $p = 0.001$). The expression of p53 was also greater for the Her2/neu (55.5%) and triple-negative (60.8%) groups ($p = 0.0005$) than for the others.

Conclusions. The subgroups without hormone receptor expression, with Her2/neu overexpression or without (triple-negative group), have characteristics associated with variables of a poorer prognosis. The lack of progesterone receptor expression also seems to be associated with these.

Key words: Breast cancer. Hormone receptors. Her2/neu. Immunohistochemistry. Oestrogen receptors. Progesterone receptors.

Introducción

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea cuya valoración pronóstica clásica se ha basado en parámetros clínicos e histopatológicos. La estadificación de los casos se ha fundamentado sobre todo en el tamaño tumoral y la afectación ganglionar. De todas formas, y aunque permiten la comparación de series y distintos tratamientos, estas clasificaciones morfológicas no terminan de aquilatar con suficiente especificidad el comportamiento biológico de los distintos tumores. La clasificación TNM permite agrupar a los pacientes en distintos estadios que representan diferentes probabilidades de recidiva y, por tanto, establecen un pronóstico y ayudan a indicar terapias adyuvantes al tratamiento quirúrgico¹. Esto es especialmente cierto en los casos correspondientes a estadios muy precoces (0 o I) con recidivas en menos del 5% y en casos avanzados (III) con recidivas en torno al 80% a 5 años, y en los que puede estar más clara la indicación o no de quimioterapia y/o radioterapia adyuvante. Por desgracia, en los estadios intermedios la falta de indicadores pronósticos más específicos puede conllevar un infratratamiento o sobretatamiento, con la morbilidad asociada, sobre todo, en este último caso.

La aplicación de técnicas inmunohistoquímicas permite estudiar otras variables que pueden ayudar a ser más específicos en esta indicación. El índice de proliferación tumoral, determinado por la expresión de moléculas como el MIB-1 (ki67), o la expresión de receptores hormonales o del receptor Her2/neu por las células tumorales son otros factores con valor pronóstico y predictivo de la respuesta a una determinada terapia²⁻⁴.

Con los avances tecnológicos, los estudios de biología molecular con *microarrays* llegan a descifrar el código de expresión de determinados genes (genómica) o de proteínas reflejo de aquéllos (proteómica), y se ha podido relacionar este patrón de expresión con formas tumorales de diferente pronóstico. Mediante la técnica de *microarrays* se puede estudiar las diferencias en la expresión de genes en distintos tumores y compararlos con tejido normal. Basándose en las diferencias pronósticas observadas, se ha propuesto la existencia de subgrupos de tumores, que podrían tener un comportamiento distinto e incluso podrían ser subsidiarios de diferentes aproximaciones terapéuticas^{5,6}. De este modo habría dos grandes

grupos de cánceres de mama: aquellos con expresión de genes relacionados con los receptores hormonales (tipo luminal, que pueden subdividirse en luminal A y B en función del grado de expresión de estos genes y del p53) y otros que no expresan estos genes (tipo Her2/neu, con sobreexpresión de Her2/neu, y tipo basal, que no sobreexpresarían este gen y que tendrían sobreexpresión de p53 y EGFR1)⁷⁻⁹.

Estos estudios de biología molecular son costosos, y aunque presentan una prometedora proyección en su utilidad clínica futura, en la actualidad su aplicación clínica no es factible dados la complejidad y el coste de estas técnicas. Los estudios con inmunohistoquímica son técnicas más asequibles a la práctica clínica y, puesto que revelan la expresión de determinadas proteínas en las células tumorales, podrían considerarse un reflejo válido y aplicable de los estudios de biología molecular¹⁰. De hecho, se ha demostrado la utilidad de clasificar a las pacientes con cáncer de mama en función de la expresión y sobreexpresión de determinadas moléculas, fundamentalmente los receptores hormonales y el receptor Her2/neu. Los tumores que expresan receptores hormonales (para estrógeno y/o progesterona) son tumores mejor diferenciados y con mejor pronóstico que los que sobreexpresan Her2/neu o aquellos sin receptores hormonales ni Her2/neu (triples negativos)¹¹. Por otro lado, el uso de la determinación mediante inmunohistoquímica de la expresión de otras moléculas, como las citoqueratinas 5/6, la expresión de p53, los índices de proliferación, entre otros, permite distinguir subgrupos de peor pronóstico dentro de los triples negativos (subtipo basal)¹²⁻¹⁵.

En este trabajo se pretende determinar si 5 perfiles inmunohistoquímicos establecidos a partir de la expresión de receptores hormonales y de la sobreexpresión de Her2/neu se asocian con variables clínicas, histopatológicas e inmunohistoquímicas de conocido valor pronóstico para el cáncer de mama.

Pacientes y método

Pacientes y muestras

Se estudiaron un total de 194 muestras de tumores correspondientes a carcinomas de mama en otras tantas pacientes. Los tumores correspondieron al tipo histológico del carcinoma ductal infiltrante, excluyéndose los diagnósticos de carcinoma lobulillar infiltrante, carcinoma ductal in situ o formas histológicas especiales. La media \pm desviación estándar de edad de las pacientes fue 57,2 \pm 13 (intervalo, 25-87) años.

El material utilizado fueron piezas quirúrgicas a partir de bloques de parafina, fijadas entre 12 y 24 h en formaldehído prediluido al 10% tamponado.

Inmunohistoquímica y su evaluación

En todas las muestras se realizaron estudios inmunohistoquímicos, con los reactivos, clones de anticuerpos, sistemas de recuperación antigénica y diluciones que se detallan en la tabla 1. En todos los casos se realizó revelado con cromógeno (fig. 1) y se utilizaron como controles tejidos previamente comprobados con positividad para los marcadores utilizados.

Los mismos patólogos (J.S., J.B.) realizaron la valoración del resultado del estudio inmunohistoquímico, en todos los casos salvo para el Her2/neu, mediante un método cuantitativo; se consideró positiva su expresión cuando se superaba el 10% de las células sobre 10 campos de gran aumento. En el caso concreto del Her2/neu, la valoración fue semicuantitativa; se categorizó de 0 a +++, y se consideró positivo el caso

TABLA 1. Características técnicas de la metodología inmunohistoquímica

Proteína	Origen	Clon	Pretratamiento	Dilución
Receptores de estrógenos	Novocastra, Newcastle, Reino Unido	ER-6F11	Olla a presión con pH 6	1:20
Receptores de progesterona	Dako, Glostrup, Dinamarca	PgR-636	Olla a presión con pH 9	1:50
Her2neu	Dako, Glostrup, Dinamarca	K5207	Baño de 95-99 °C con pH 7	Kit prediluido
Receptores de andrógenos	Dako, Glostrup, Dinamarca	AR-441	Olla a presión con pH 9	1:50
ki-67	Dako, Glostrup, Dinamarca	Mib-1	Olla a presión con pH 6	1:50
p53	Novocastra, Newcastle, Reino Unido	DO-2	Olla a presión con pH 6	1:20

de +++, y negativo, el de 0 o +; en los casos de ++, se realizó valoración mediante técnica FISH para determinar si era positivo o negativo. Esta técnica, para la determinación del grado de amplificación del oncogén ERBB2 (Her2neu) en los casos cuantificados como ++, se realizó mediante hibridación in situ con 2 sondas de ADN marcadas con fluoresceína. Las sondas utilizadas fueron CEP17 y LSI HER2. El resultado se obtiene tras el cálculo del cociente entre el número de señales de ambas sondas (HER/CEP) en un mínimo de 20 núcleos de células tumorales, valorado sucesivamente por 2 observadores (J.S., J.B.). El cociente HER/CEP inferior a 1,8 se interpretó como ausencia de amplificación de Her2neu.

Para su clasificación en este trabajo se han definido los siguientes 5 grupos o perfiles inmunohistoquímicos, basados en la expresión de receptores hormonales (de estrógenos o progesterona) y/o sobreexpresión de receptores Her2neu, y que se resume en la tabla 2:

- El perfil denominado tipo luminal, que se define por la expresión de receptores hormonales (sean estrogénicos o progesterónicos) sin sobreexpresión de Her2neu. Este grupo se divide en dos subtipos dependiendo de que expresen (luminal A) o no (luminal B) receptores para progesterona.

- El perfil mixto, en el que hay tanto expresión de receptores hormonales (estrogénicos y/o progesterónicos) como sobreexpresión de Her2neu.

- El perfil tipo Her2neu, en el que no se expresan receptores hormonales, pero sí hay una sobreexpresión del receptor Her2neu.

- El perfil tipo triple negativo, en el que no hay expresión de receptores hormonales ni sobreexpresión de Her2neu.

Variables clinicopatológicas e inmunohistoquímicas

En todos los casos se registraron variables clínicas y relacionadas con el diagnóstico (edad, edad de menarquia, menopausia, edad de la menopausia, antecedentes de gestaciones, número de gestaciones y edad de la primera, antecedente de lactancia, consumo de anticonceptivos o terapia hormonal y antecedentes familiares de primer grado para cáncer de mama y/u ovario), estadio de la clasificación TNM¹⁶, histopatológicos (tamaño tumoral, multifocalidad, diferenciación histológica, componente intraductal y su grado, invasión vascular y afectación de ganglios) e inmunohistoquímicas (expresión de receptores de andrógenos, índice de proliferación –Ki67–, expresión de p53).

Metodología estadística

Se compararon las variables entre los 3 grupos mediante una prueba de ANOVA para las variables cuantitativas y un análisis de tablas de contingencia con análisis de residuos y la prueba de la χ^2 para las cualitativas. Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$ y un valor ajustado de residuos, para definir el sentido de la relación entre variables, de $\pm 1,96$.

Resultados

En la serie se encontraron 134 (69%) de los 194 casos correspondientes a un inmunofenotipo luminal, de los que 98 (50,5%) fueron del grupo luminal A y 36 (18,6%), del luminal B; 29 (15,9%) casos fueron de inmunofenotipo triple negativo, en 18 (9,3%) se daba un inmunofenotipo de tipo mixto y en 13 (6,7%), del tipo Her2neu.

En 4 casos la valoración del Her2neu mostró ++, que en el estudio mediante la técnica de FISH fueron todos negativos, con número de copias de Her2neu menor de 4

y cociente entre número de copias Her2neu/número de centrómeros menor de 2 en todos los casos.

La relación entre los distintos grupos considerados y las variables clínico-epidemiológicas se muestran en la tabla 3. Sólo el hecho de no tener antecedentes de gestación mostró diferencias casi significativas entre ellos, concretamente con el inmunofenotipo triple negativo respecto a los otros grupos. No hubo diferencias en el resto de las variables clínicas o epidemiológicas consideradas.

En relación con las variables histopatológicas de los tumores, hay que destacar la relación entre los inmunofenotipos triple negativo y Her2neu con formas histológicas peor diferenciadas (el 62 y el 60%, respectivamente) y del grupo luminal A con tumores bien diferenciados ($p = 0,008$). En este sentido, aunque no hay diferencias en la proporción de componente intraductal en cada perfil, sí que se encuentra que en todos los casos de los grupos triple negativo y Her2neu el carcinoma in situ es de alto grado, mientras que sólo el 50% de los casos del grupo luminal A presentan componente intraductal de alto grado ($p = 0,008$). No se encontraron diferencias entre los grupos en relación con el tamaño tumoral, su multicentricidad o la presencia de invasión vascular ni la afectación ganglionar (tabla 4).

Respecto a la afectación ganglionar, mientras que el inmunofenotipo luminal A sólo la presentaba en el 34,6% de los casos, los grupos luminal B y Her2neu presentaban una proporción significativamente mayor de casos con afectación ganglionar (el 66,6 y el 69,2%, respectivamente) ($p = 0,001$) (tabla 4).

Las variables inmunohistoquímicas que se estudiaron (tabla 5) entre los grupos mostraron que los tumores del grupo luminal A tenían una expresión significativamente mayor de receptores androgénicos. La sobreexpresión del factor de proliferación celular (ki67) fue significativamente mayor en el grupo triple negativo (73,9%) y significativamente baja en el luminal A (26,3%) ($p = 0,001$). La expresión de p53 también fue mayor para los grupos Her2neu (55,5%) y triple negativo (60,8%) ($p = 0,0005$) respecto a los otros (tabla 5).

La distribución de casos según los estadios TNM en los distintos grupos definidos se presenta en la figura 2. Es de destacar la relación positiva significativa entre el mayor número de casos en estadio I y el grupo luminal A y la relación negativa entre este mismo grupo y los estadios avanzados ($p = 0,041$). De la misma forma, y con idéntico nivel de significación, el perfil luminal B se relaciona con menos casos en estadios precoces y con más casos en estadios avanzados, incluso en mayor grado que las formas que no expresan receptores hormonales (Her2neu y triple negativo).

Discusión

Los perfiles inmunohistoquímicos utilizados en este trabajo están basados en las características de los tumores descritas mediante estudios con *microarrays* sobre cánceres de mama¹⁷⁻¹⁹ y en trabajos previos con técnicas de inmunohistoquímica²⁰. La definición de los grupos, no

obstante, depende de la expresión de determinadas proteínas por las células tumorales, y la finalidad es tratar de comprobar si las técnicas de inmunohistoquímica, mucho más sencillas de realizar e interpretar en la práctica diaria que las técnicas de biología molecular, pueden llegar a definir inmunofenotipos con diferencias en variables de interés pronóstico que sirvan como guía para diseñar es-

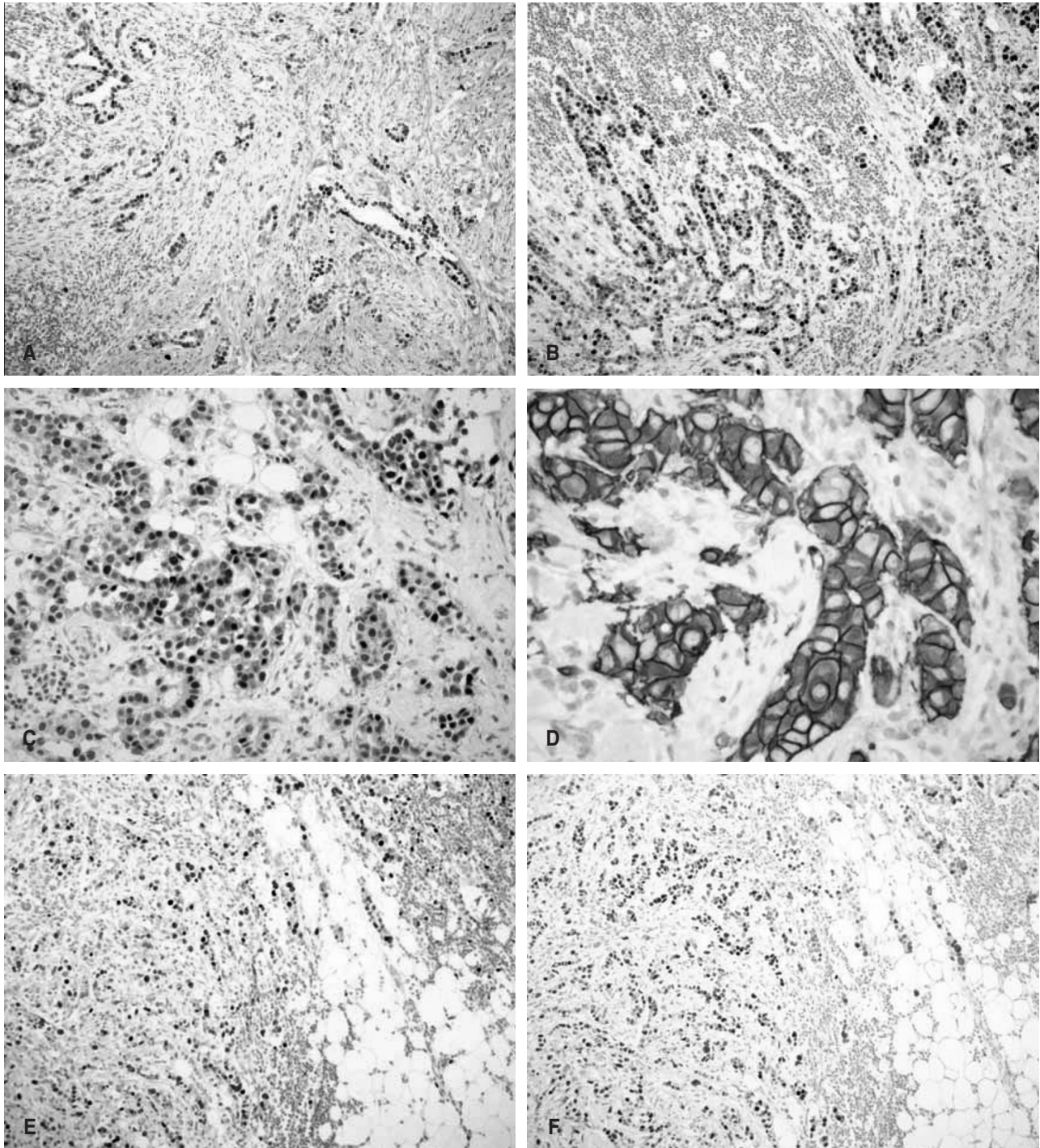


Fig. 1. Imágenes microscópicas correspondientes a resultados positivos con las tinciones inmunohistoquímicas. A: receptores estrogénicos ($\times 100$). B: receptores progesterónicos ($\times 100$). C: receptores androgénicos ($\times 200$). D: receptores Her2neu ($\times 400x$). E: expresión de ki67 ($\times 100$). F: expresión de p53 ($\times 100$).

TABLA 2. Definición de los grupos de estudio

Luminal A	Luminal B	Mixto	Her2neu	Triple negativo
RE+ RP+ HER2-	RE+ RP- HER2-	RE +/- RP +/- HER2+	RE- RP- HER2+	RE- RP- HER2-

RE: receptores de estrógenos; RP: receptores de progesterona.

tudios que permitan encontrar diferencias en la supervivencia global y libre de enfermedad e incluso que definan un valor predictivo de respuesta a tratamientos.

El primer paso, que pretende reflejar este trabajo, consistiría en determinar si hay diferencias entre los distintos inmunofenotipos definidos en relación con variables clínicas, histopatológicas e inmunohistoquímicas que tienen un conocido significado pronóstico, de tal forma que se puedan estratificar estos inmunofenotipos en relación con este pronóstico.

Los casos se han clasificado en función de la determinación de 3 pruebas inmunohistoquímicas de las que ya se conoce su importancia pronóstica e incluso predictiva, como son los receptores hormonales (estrogénicos y progesterónicos) y el Her2neu^{21,22}. Su combinación nos ha llevado a catalogar los casos en los grupos definidos.

La proporción de casos en cada grupo se corresponde básicamente con la encontrada en la literatura mediante técnicas de *microarrays*, con una mayor frecuencia de inmunofenotipo luminal, que en la serie del Carolina Breast Cancer Study fue del 67%²³ y en nuestra serie es del 69%. También el porcentaje de casos triples negativos (definido por la falta de expresión inmunohistoquímica de receptores estrogénicos, progesterónicos y Her2neu, sin tener en cuenta la de EGFR o citoqueratinas) concuerda con lo expresado en otras series (16,3%)¹⁴.

En las variables clínicas no encontramos diferencias significativas de interés entre los grupos. Si acaso, de forma anecdótica, sólo se encuentra que las pacientes con inmunofenotipo triple negativo, es decir, aquellas cuyos tumores no expresan receptores de ningún tipo de los considerados, presentaban una casi significativa menor tasa de gestaciones que los otros grupos.

Más interesante y de mayor importancia, a la hora de valorar la utilidad de estos criterios para clasificar el

cáncer de mama desde un punto de vista pronóstico, es la relación que se encuentra entre los grupos triple negativo y Her2neu con las formas menos diferenciadas histológicamente^{14,24} y de la forma luminal A con las mejor diferenciadas. También, aunque no se encuentran diferencias en la cuantía de componente intraductal entre los diferentes grupos, en los casos con componente intraductal asociado, es significativa la presencia de tumor de alto grado en los grupos Her2neu y triple negativo.

No se encontraron diferencias entre los grupos en el tamaño tumoral o la invasión linfocascular, aunque encontramos que los grupos Her2neu y luminal B presentaban una significativa mayor proporción de casos con afectación ganglionar, lo que se refleja también al estudiar la proporción de casos con cáncer precoz o avanzado, según la clasificación TNM, entre los grupos. Aunque es conocido el peor pronóstico de los tumores que no expresan receptores, es llamativa la diferencia en la invasión ganglionar que se da en los casos que no expresan receptores progesterónicos pero sí de estrógenos que, al menos en nuestra serie, se asocia claramente con más estadios avanzados y menos estadios precoces. También es clara la asociación de la expresión del receptor Her2neu con la afectación ganglionar, incluso cuando se compara con grupos de fenotipo basal definidos por *microarrays*²⁴.

El peor comportamiento teórico de los tumores clasificados como triple negativo y Her2neu queda refrendado también por la relación de estos grupos con parámetros inmunohistoquímicos de mal pronóstico, como es el caso de un alto índice de proliferación celular²⁵, en el caso del grupo triple negativo, o la expresión de p53 para ambos, aunque la comprobación de la utilidad pronóstica de esta clasificación inmunohistoquímica debe realizarse con un estudio de seguimiento a largo plazo con los casos presentados. De hecho, en nuestra serie, sin haberse utilizado como criterio de definición del grupo, encontramos una asociación significativa de la expresión de p53 con el inmunofenotipo triple negativo, como sucede en los trabajos realizados con *microarrays*⁸ e inmunohistoquímica¹⁴. Al igual que se ha visto en otras series², y aunque sin diferencias estadísticamente significativas en nuestros casos, es de destacar que la tercera parte de los casos del grupo luminal B presentaban un índice de proliferación elevado,

TABLA 3. Variables epidemiológicas y clínicas

	Luminal A (n = 98)	Luminal B (n = 36)	Mixto (n = 18)	Her2neu (n = 13)	Triple negativo (n = 29)	p
Edad	57,3 ± 13,1	61,3 ± 11,5	56,2 ± 12,2	54,3 ± 12,9	53,8 ± 14,3	0,178
Edad de menarquia	12,9 ± 1,5	12,8 ± 1,7	12,5 ± 1,8	12,6 ± 1	12,5 ± 1,3	0,795
Menopausia	64,10%	76,40%	61,10%	81,80%	57,60%	0,402
Edad de menopausia	49,6 ± 4,9	49,5 ± 4	47,4 ± 4,7	48,2 ± 5	47,5 ± 6,4	0,487
Gestaciones	87,60%	92,80%	88,80%	100	68,10%	0,053
N.º de gestaciones	3,5 ± 1,6	3,3 ± 1,4	3,7 ± 1,9	3,8 ± 1,6	3,8 ± 2,2	0,875
Edad de primera gestación	24 ± 4,3	25,5 ± 4,2	25 ± 5,7	24,2 ± 6	23,5 ± 3,6	0,892
Lactancia	75,30%	84,60%	70,50%	90,90%	54,50%	0,102
ACO/THS	10,80%	17,20%	25%	18,10%	12,50%	0,621
Antecedentes familiares de primer grado	21,30%	16,60%	5,50%	41,60%	24%	0,184

ACO/THS: consumo hormonal (anticonceptivos o terapia hormonal sustitutiva, en premenopáusicas o posmenopáusicas, respectivamente). Las variables cuantitativas están expresadas como media ± desviación típica.

TABLA 4. Variables histopatológicas

	Luminal A (n = 98)	Luminal B (n = 36)	Mixto (n = 18)	Her2neu (n = 13)	Triple negativo (n = 29)	p
Tamaño	21,5 ± 13,6	26,5 ± 16,7	24,5 ± 14,5	28,4 ± 15,9	25,6 ± 15,7	0,254
Único	89,70%	86,10%	88,80%	76,90%	89,60%	0,613
Mal diferenciado	20,20%	36,10%	27,70%	60%	62%	0,0005
CIS (%)	26,2 ± 3,8	12,7 ± 2,4	21,6 ± 10,1	38,7 ± 18,7	23,6 ± 8,4	0,245
CIS alto grado	50%	60%	85,70%	100%	100%	0,008
Invasión vascular	19,20%	34,20%	33,30%	33,30%	16%	0,274
Afectación ganglionar	34,60%	66,60%	50%	69,20%	27,50%	0,001

CIS: carcinoma intraductal.

Las variables cuantitativas están expresadas como media ± error típico.

TABLA 5. Variables inmunohistoquímicas

	Luminal A (n = 98)	Luminal B (n = 36)	Mixto (n = 18)	Her2neu (n = 13)	Triple negativo (n = 29)	p
RA	51,70%	33,30%	37,50%	11,10%	8,60%	0,003
ki-67	26,30%	33,30%	25%	55,50%	73,90%	0,001
p53	16,30%	13%	12,50%	55,50%	60,80%	0,0005

RA: receptores androgénicos.

lo cual implica un factor de peor pronóstico respecto al otro subgrupo luminal y al grupo mixto.

En este trabajo se encuentran diferencias llamativas en un subgrupo concreto de tumores que expresan receptores hormonales estrogénicos únicamente, como es el caso del luminal B. Esto podría ser explicado desde el diseño de los grupos, al definir un grupo mixto con casos en que hay tanto receptores hormonales como Her2neu, que no "contaminarían" estadísticamente al grupo luminal puro y desprecia las diferencias que pudieran deberse a la expresión del receptor Her2neu. No considerar este grupo, definiendo como luminal a un tumor por el simple hecho de que exprese receptores hormonales e indepen-

dientemente de que exprese Her2neu, podría pasar por alto estos hallazgos. Una explicación hipotética a la asociación que surge en este trabajo entre el grupo luminal B con una mayor afectación ganglionar y una mayor tasa de proliferación celular se basaría en que los receptores estrogénicos permiten un estímulo de la proliferación, mientras que la ausencia de receptores progestérgicos impediría la modulación de la diferenciación celular²⁶⁻²⁸, probablemente dotando a las células de características asociadas a un peor pronóstico clínico. Otra hipótesis, basada en el hecho de que determinados factores de crecimiento pueden ocasionar una disminución en la expresión de receptores de progesterona, es que el fenoti-

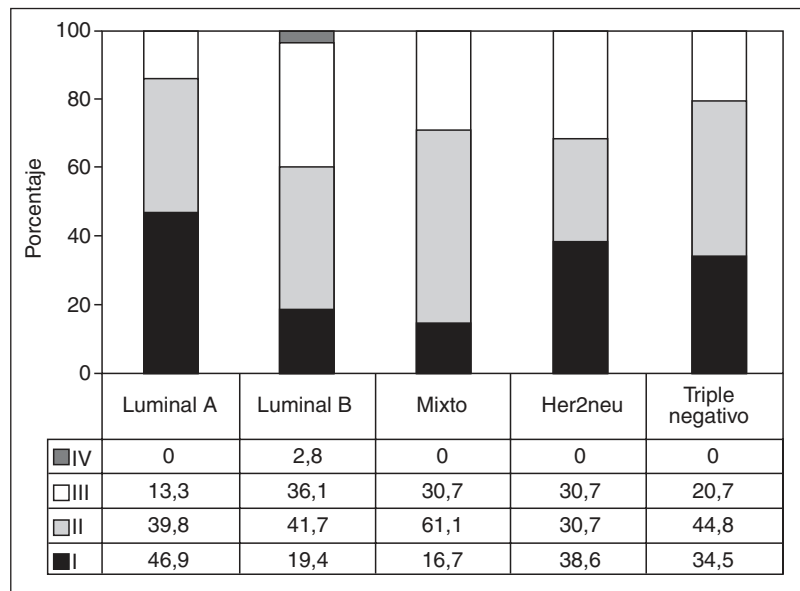


Fig. 2. Distribución de los estadios TNM entre los inmunofenotipos considerados. Las cifras expresan porcentaje sobre el total de cada grupo.

po luminal B sólo sea un epifenómeno que refleje la situación de tumores en los que se da una relación de hiperfuncionalidad entre los receptores estrogénicos y determinadas vías que incluyan estos factores de crecimiento y, en definitiva, inhiben la expresión de los receptores de progesterona²⁹.

Desde el punto de vista de su aplicación clínica, además, es importante reseñar que el patrón dependiente de la expresión o no de receptores progesterónicos tendría también importancia como factor a la hora de considerar pautas terapéuticas hormonales concretas^{26,30-33}.

De forma general, y en relación con esto último, hay que destacar que tan importante o más que la utilidad pronóstica de este tipo de clasificación es su valor predictivo. Esto es, los distintos inmunofenotipos responderían de forma distinta a distintas terapias. Así los grupos luminales con expresión de receptores serían subsidarios de tratamientos hormonales (considerando las matizaciones a las que se hace referencia en el anterior párrafo), mientras que las pacientes del grupo Her2neu se beneficiarán de añadir terapia biológica con trastuzumab a la quimioterapia, y el inmunofenotipo triple negativo precisará quimioterapia. En este contexto, la asociación de la expresión de p53 con inmunofenotipos de alto riesgo podría definir subgrupos que se beneficiarían de quimioterapias de alta dosis³⁴.

En relación con el tratamiento adyuvante del cáncer de mama, incluso se ha comprobado la influencia de la expresión inmunohistoquímica con la respuesta a terapias primarias o neoadyuvantes³⁵.

Por todo lo anterior y ante la creciente introducción de nuevos fármacos, sobre todo hormonales, y terapias biológicas (anticuerpos dirigidos a dianas terapéuticas específicas), se hace imprescindible investigar y tener en cuenta este tipo de clasificaciones a la hora de valorar la respuesta a estos tratamientos, lo que deja abierta la línea de trabajo con las variables inmunohistoquímicas que, probablemente, permitan definir grupos concretos con mejor o peor respuesta a estas terapias.

En definitiva, los resultados obtenidos parecen confirmar que hay diferencias entre los inmunofenotipos considerados, de tal forma que la clasificación mediante estos criterios permitiría discernir formas con diferente pronóstico, aunque son necesarios estudios de seguimiento para confirmar este punto. Entre estas diferencias los subgrupos sin expresión de receptores hormonales, con sobreexpresión de Her2neu (grupo Her2neu) o sin ella (grupo triple negativo), presentan características asociadas a variables de peor pronóstico. También la falta de expresión de receptores progesterónicos, en los casos con receptores hormonales, parece asociarse a éstas.

Bibliografía

1. Singletary SE, Connolly JL. Breast cancer staging: working with the sixth edition of the AJCC Cancer Staging Manual. *CA Cancer J Clin.* 2006;56:37-47.
2. Arpino G, Weiss H, Lee AV, Schiff R, De Placido S, Osborne CK, et al. Estrogen receptor-positive, progesterone receptor-negative breast cancer: association with growth factor receptor expression and tamoxifen resistance. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97:1254-61.
3. Ciocca DR, Gago FE, Fanelli MA, Calderwood SA. Co-expression of steroid receptors (estrogen receptor alpha and/or progesterone receptors) and Her-2-neu: clinical implications. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2006;102:32-40.
4. Railo M, Lundin J, Haglund C, Von Smitten K, Nordling S. ki-67, p53, ER receptors, ploidy and S-phase as long-term prognostic factors in T1 node-negative breast cancer. *Tumour Biol.* 2006;28:45-51.
5. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani RT, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:10869-74.
6. Glinisky GV, Higashiyama T, Gliniskii AB. Classification of human breast cancer using gene expression profiling as a component of the survival predictor algorithm. *Clin Cancer Res.* 2004;10:2272-83.
7. Sorlie T. Molecular portraits of breast cancer: tumor subtypes as distinct disease entities. *Eur J Cancer.* 2004;40:2667-75.
8. Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *J Clin Oncol.* 2005;23:7350-60.
9. Sorlie T, Wang Y, Xiao C, Johnsen H, Naume B, Samaha RR, et al. Distinct molecular mechanisms underlying clinically relevant subtypes of breast cancer: gene expression analyses across three different platforms. *BMC Genomics.* 2006;7:127-42.
10. Regan MM, Viale G, Mastropasqua MG, Maiorano E, Golouh R, Carbone A, et al. Re-evaluating adjuvant breast cancer trials: assessing hormone receptor status by immunohistochemical versus extraction assays. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98:1571-81.
11. Putti TC, El-Rehim DM, Rakha EA, Paish CE, Lee AHS, Pinder SE, et al. Estrogen receptor-negative breast carcinomas: a review of morphology and immunophenotypic analysis. *Modern Pathology.* 2005;18:26-35.
12. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2004;10:5367-74.
13. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kaha HK, Sawka CA, et al. Triple negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res.* 2007;13:4429-34.
14. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AHS, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer.* 2007;109:25-32.
15. Tischkowitz M, Brunet JS, Begin LR, Huntsman DG, Cheang MCU, Akslen LA, et al. Using of immunohistochemical markers can refine prognosis in triple negative breast cancer. *BMC Cancer.* 2007;7:134-45.
16. Sobin LH, Wittekind Ch. TNM classification of malignant tumours. 6.^a ed. New York: Wiley-Liss; 2002.
17. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, Van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumors. *Nature.* 2000;406:747-52.
18. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Parker J, Hastie T, Marron JS, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:8418-23.
19. Ma XJ, Salunga R, Tuggle JT, Gaudet J, Enright E, McQuary P, et al. Gene expression profiles of human breast cancer progression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:5974-9.
20. Kusinska R, Potemski P, Jesionek-Kupnicka D, Kordek R. Immunohistochemical identification of basal-type cytokeratins in invasive ductal breast carcinoma: relation with grade, stage, estrogen receptor and HER-2. *Pol J Pathol.* 2005;56:107-10.
21. Elledge RM, Allred DC. Clinical aspects of estrogen and progesterone receptors. En: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK, editores. *Diseases of the breast.* 3.^a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 603-17.
22. Ragaz J. Impact of Her-2/neu expression on natural history and outcome of human breast cancer. En: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK, editores. *Diseases of the breast.* 3.^a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 619-52.
23. Carey LA, Perou CM, Dressler LG, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, et al. Race and the poor prognosis basal-like breast cancer (BBC) phenotype in the population-based Carolina Breast Cancer Study. *J Clin Oncol.* 2004 Suppl; abstract 9510.
24. Kim MJ, Ro JY, Ahn SH, Kim HH, Kim SB, Gong G. Clinicopathologic significance of the basal-like subtype of breast cancer: a com-

- parison with hormonoreceptor and Her2neu-overexpression phenotypes. *Hum Pathol.* 2006;37:1217-26.
25. Urruticoechea A, Smith IE, Dowsett M. Proliferation marker ki-67 in early breast cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23:7212-20.
 26. Lanari C, Molinolo AA. Diverse activation pathways for the progesterone receptor: possible implications for breast biology and cancer. *Breast Cancer Res.* 2002;4:240-3.
 27. Connely OM, Jericevic BM, Lydon JP. Progesterone receptors in mammary gland development and tumorigenesis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2003;8:205-14.
 28. Aupperlee M, Kariagina A, Osuch J, Haslam SZ. Progestins and breast cancer. *Breast Dis.* 2005;24:37-57.
 29. Martin M. Molecular biology of breast cancer. *Clin Transl Oncol.* 2006;8:7-14.
 30. Bardou VJ, Arpino G, Elledge RM, Osborne CK, Clark GM. Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large breast cancer databases. *J Clin Oncol.* 2003;21:1973-9.
 31. Cui X, Schiff R, Arpino G, Osborne CK, Lee AV. Biology of progesterone loss in breast cancer and its implications for endocrine therapy. *J Clin Oncol.* 2005;23:7721-35.
 32. Punglia RS, Kuntz KM, Winer EP, Weeks JC, Burstein HJ. The impact of tumor progesterone receptor status on optimal adjuvant endocrine therapy for postmenopausal patients with early-stage breast cancer: a decision analysis. *Cancer.* 2006;106:2576-82.
 33. Yamashita H, Ando Y, Nishio M, Zhang Z, Hamaguchi M, Mita K, et al. Immunohistochemical evaluation of hormone receptor status for predicting response to endocrine therapy in metastatic breast cancer. *Breast Cancer.* 2006;13:74-83.
 34. Kröger N, Milde-Langosch K, Riethdorf S, Schmoor C, Schumacher M, Zander AR, et al. Prognostic and predictive effects of immunohistochemical factors in high-risk primary breast cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2006;12:159-68.
 35. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, Andre F, Tordani A, Mejia JA, et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple negative breast cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26:1275-81.