

## PERFIL INMUNOHISTOQUÍMICO Y LA CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL CARCINOMA DE MAMA EN UNA POBLACIÓN VENEZOLANA

VILMA E REBOLLEDO-P, NINO FERRI N, ALDO REIGOSA-Y, EDUARDO CALEIRAS-P, YOLIMA FERNÁNDEZ-R

CENTRO DE INVESTIGACIONES MÉDICAS Y BIOTECNOLÓGICAS, DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL DEL SUR, DEPARTAMENTO DE MORFOFISIOPATOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE CARABOBO, HOSPITAL METROPOLITANO DEL NORTE. VALENCIA, ESTADO CARABOBO.

### RESUMEN

**OBJETIVO:** Se planteó evaluar expresión de varios biomarcadores moleculares para exponer un perfil inmunohistoquímico que permita conocer y definir la caracterización molecular de esta neoplasia en una población venezolana. **MÉTODO:** Se evaluó la expresión de varios biomarcadores moleculares en pacientes con carcinoma de glándula mamaria que se realizaron dicho análisis en el laboratorio de anatomía patológica del Hospital Metropolitano del Norte, en el lapso comprendido entre 1999 al 2007. Se clasificaron los tumores empleando los trabajos Wiechmann y Carey, Wiechman y su grupo. Se valoró la expresión de p53, Bcl2 y Ki-67 según los anteriores, se relacionaron con aspectos clínicos patológicos. **RESULTADOS:** Edad promedio de los casos fue 51,16 años. Se observó predominio de los luminal. El marcaje del p53 se observó en más del 60 % de los casos clasificados como Her-2+ y triple negativo, y el Bcl2 se expresó en menos del 50 % de los casos en ambos subtipos tumorales mencionados. En cuanto al Ki-67, los Her-2+ presentaron el menor porcentaje de casos que lo expresaron el relación al resto. Los tumores luminal correspondieron a lesiones estadio II y presentaron mayor afectación de la axila, los subtipos Her-2+ y triple negativo con estadios III. **CONCLUSIÓN:** Lo obtenido en este estudio parece apuntar que hay diferencias entre los inmunofenotipos considerados, de tal forma que la clasificación mediante estos criterios permitiría discernir formas con diferente

pronóstico en nuestras pacientes aunque son necesarios estudios de seguimiento para confirmar este punto.

**PALABRAS CLAVE:** Cáncer, mama, marcadores, moleculares, perfil, inmunohistoquímico, caracterización molecular.

### SUMMARY

**OBJECTIVE:** An evaluation was the expression of several molecular biomarkers with the goal of exposing an immunohistochemical profile that allows knowing and better defining the molecular characterization of the tumor in a Venezuelan population. **METHOD:** We evaluated the expression of several molecular biomarkers in patients with carcinoma of the breast were performed this analysis at the laboratory of pathology, Hospital Metropolitan of North, Valencia - Carabobo State, Venezuela, in the period between 1999 to 2007. The tumors were classified using the work Wiechmann, and Carey, Wiechmann and group. We evaluated the expression of p53, Bcl2 and Ki-67 according to the above and related to the clinical disease. **RESULTS:** The average age of cases was 51.16 years. It was observed prevalence of luminal. The labeling of p53 was observed in more than 60 % of cases classified as HER-2 + and triple negative, and Bcl2 was expressed in less than 50 % of cases in both tumor subtypes above. As for Ki-67, the Her-2 + had the lowest percentage of cases that expressed relative to the rest. Luminal tumors corresponded to stage II lesions had a higher axils, subtypes Her-2 + and triple negative stage III. **CONCLUSION:** In particular what was obtained in this study seems to indicate that there are differences between the immunophenotypes considered, so that the classification by these criteria would discern shapes with different prognosis in our patients but follow-up studies are needed to confirm this point.

**KEY WORDS:** Breast, cancer, molecular markers, immunohistochemical, profile, molecular characterization.

---

Recibido: 30/07/2011 Revisado: 19/10/2011

Aceptado para publicación: 02/11/2011

Correspondencia: Dra. Vilma Rebolledo. Centro de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas de la Universidad de Carabobo, frente a la Facultad de Ingeniería, Av. Universidad, Bárbula, Valencia, Estado Carabobo, Venezuela. E-mail: rebvilma@hotmail.com Fax: +58-241-8666243. Teléfono: + 58-241-8666243.

Financiamiento: CDCH.UC

---

## INTRODUCCIÓN

**E**l carcinoma de mama es el tumor maligno más frecuente en la mujer a nivel mundial. De 6 millones de tumores malignos que se diagnosticaron en el año 2008 en población femenina, 1,4 millones correspondieron a la neoplasia, ubicándola en primer lugar incluso por encima del carcinoma de cuello uterino, 27 % de los casos se diagnosticaron en países desarrollados y 19 % en países en desarrollo (1-5). En Venezuela en las últimas dos décadas, diariamente es frecuente el diagnóstico de nuevos casos, donde aproximadamente la mitad de las pacientes fallece a consecuencia de la enfermedad (6-8). El interés en la neoplasia ha llevado al desarrollo de múltiples trabajos de investigación durante los últimos cincuenta años, inicialmente con la finalidad de conocer su génesis y desarrollo (9-11) y más recientemente definir sus características moleculares, como la clave para comprender su comportamiento biológico y decidir su manejo terapéutico bajo nuevos conceptos hoy día (12-18). De los anteriores ha surgido que la valoración pronóstica clásica del carcinoma de mama, basada en parámetros clínicos e histopatológicos no es suficiente para predecir el curso de la enfermedad, ni refleja la variabilidad tumoral (10-16), se reconoce, que es una enfermedad heterogénea con una base biológica en decodificación constante. Es así que a la luz de los conocimientos actuales, se acepta que la neoplasia está compuesta de un número creciente de subtipos biológicos, con una sustancial versatilidad en la evolución dentro de cada categoría (14-19). Perou, Sorlie y col., (12,20), empleando microarreglos de ADN y un agrupamiento jerárquico, fueron los pioneros en demostrar las firmas genómicas del carcinoma de mama, propusieron que podía clasificarse también en base al análisis de la expresión génica y determinaron que existían al menos cuatro clases moleculares. Estudios subsiguientes,

incluso combinando métodos de biología molecular (genómica y proteómica) confirmaron que hay diferencias de gran magnitud en la expresión génica entre los tumores de mama receptores de estrógeno (RE) positivos y aquellos negativos, y sugirieron que existían otros subtipos moleculares (15,20-26).

Aunque los resultados de los estudios anteriores presentan una prometedora proyección de utilidad clínica futura, en la actualidad existen importantes limitantes. Por una parte, se conjuga la dificultad para asignar adecuadamente una clase molecular a nuevos casos, la falta de un método predictivo estandarizado y la interrogante sobre el número de clases moleculares, y por la otra, una aplicabilidad reducida a países con recursos económicos a consecuencia de la complejidad, el costo de sus técnicas y la infraestructura requerida (15,16,19).

De acuerdo a la literatura, el perfil del carcinoma de mama no solo puede realizarse sobre arreglos sofisticados de ADN, utilizando grandes series de genes con tejido congelado o fresco, sino también mediante la reacción en cadena de polimerasa transcriptasa reversa (RT-PCR) con series más pequeñas de genes o por inmunohistoquímica con tejidos incluidos en parafina como lo señalan diversos trabajos (12,14-19,25-31). A propósito algunos estudios han analizado patrones de expresión proteica que se correlaciona con la clasificación por microarreglos (29-31).

El perfil de la neoplasia establecido por el estudio del tumor con marcadores inmunohistoquímicos, plantea una realidad más cercana y de mejor alcance para todas nuestras pacientes afectadas, y es más asequible a la práctica clínica que los anteriores. Dicho estudio en los tumores malignos de la mama, revela la expresión de determinadas proteínas e isoformas de las mismas codificadas en las células tumorales, y con ello información hasta lo que se conoce de los genes y señales que intervienen en su expresión, lo cual podría ser

considerado un reflejo válido y aplicable de los estudios de biología molecular<sup>(32)</sup>. En ese sentido la expresión inmunoproteica del tumor, resulta de interés para cada una de las pacientes con dicho diagnóstico por las implicaciones que tiene la información para el manejo terapéutico<sup>(11,16,18,24,25,28,31)</sup>.

Basados en la importancia que tiene para una paciente con el diagnóstico que se conozca el retrato molecular del tumor y lo que se sabe ha aportado el análisis inmunohistoquímico al respecto<sup>(25-31)</sup>, se planteó evaluar la expresión de varios biomarcadores moleculares como p53, Bcl2 y Ki-67 en conjunto a los clásicamente realizados de rutina para su manejo terapéutico (RE, RP, Her-2), con el objetivo de exponer un perfil inmunohistoquímico que permita conocer y definir mejor la caracterización molecular de la neoplasia en una población Venezolana.

## MÉTODO

Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo de diseño no experimental de tipo transeccional<sup>(33,34)</sup>. Se evaluó la expresión de un conjunto de varios biomarcadores moleculares en pacientes con carcinoma de la glándula mamaria que se realizaron dicho análisis en el laboratorio de anatomía patológica del Hospital Metropolitano del Norte, Valencia, Estado Carabobo, en el lapso comprendido entre 1999 al 2007. Del archivo general de estudios inmunohistoquímico se construyó una base de datos relacional creada al efecto en Microsoft Excel®. De la revisión de la anterior se identificaron 1 074 casos de carcinoma de mama con dicho estudio. La muestra estuvo conformada por 179 casos seleccionados de acuerdo a los siguientes criterios de inclusión: diagnóstico histopatológico de carcinoma ductal infiltrante sin otra especificación, sexo femenino, cualquier edad, determinación en un solo momento de todos los biomarcadores (RE, RP, Her-2, p53, Bcl2, Ki-67), datos anatomoclínicos disponibles y de cualquier

centro médico asistencial del Estado Carabobo. Inicialmente del resultado de la expresión de los biomarcadores, se evaluó el inmunomarcaje del RE, RP y Her-2 clasificándose a los tumores de acuerdo a las subtipos moleculares, empleando de la literatura para ello los trabajos Wiechmann y col.<sup>(27)</sup> para los luminales A y B, y de Carey, Wiechmann y col.<sup>(14,27)</sup> para los Her-2 y triple negativo. Definiéndose así: luminal A: RE y/o RP(+), Her-2 (-); luminal B: RE y/o RP(+), Her-2 (+); Her-2+: RE/RP (-), Her-2 (+) y el triple negativo: RE/RP(+), Her2 (-). Seguidamente se valoró la expresión de p53, Bcl2 y Ki-67 según los anteriores subtipos y consecutivamente estos se relacionaron además con la edad, estadio clínico, grado histológico y estado de los ganglios linfáticos.

Las muestras tumorales en su momento, se fijaron en formol al 10 % e incluyeron en parafina, procesándose de forma rutinaria. La determinación de los biomarcadores señalados, se realizó por el método de estreptavidina-biotina-peroxidasa con el sistema inmuno de Dako® con los anticuerpos, clones, dilución y punto de corte detallados (Cuadro 1). De los bloques de parafina se realizaron secciones histológicas de 4 micras que se colocaron en una lámina portaobjeto previamente tratada con solución L-polysina, y se llevaron a la estufa a 60 °C por 2 horas. Seguidamente se desparafinaron, deshidrataron y re-hidrataron para la recuperación antigénica con buffer citrato pH 6 por 40 minutos a 95 °C - 99 °C. Se bloqueó la peroxidasa endógena con 1 gota de peróxido de hidrógeno al 3 % en metanol por 10 minutos y se prosiguió a la incubación con el anticuerpo monoclonal primario (RE, RP, Her-2, p53, Bcl2 y Ki-67), el anticuerpo secundario por 30 minutos, y con estreptavidina por 30 minutos. La reacción enzimática se reveló con 3' 5'-diaminobencidina, agregando 1 gota del cromógeno. Entre cada paso se lavaron las preparaciones con buffer pH 7,4. Al final, los cortes se colorearon con HE, deshidrataron y rehidrataron para el montaje con Martex.

En la evaluación de la inmutación se emplearon controles adecuados positivos y negativos. El marcaje inmunohistoquímico fue valorado a nivel nuclear, citoplasmático o de la membrana citoplasmática según el biomarcador teniendo en cuenta el grado de intensidad y la extensión de la tinción en las células tumorales (escala semicuantitativa). Los tumores se consideraron positivos al RE y RP, si al menos el 5 % (1+) de las células neoplásicas mostraba inmunomarcaje nuclear, y al p53 y Bcl2 si las anteriores mostraban inmunotinción igual o mayor de 10 % (1+) a nivel nuclear o citoplasmático respectivamente. El Her-2 se valoró de acuerdo a los parámetros habituales, considerándose positivo si al menos el 30 % de las células tumorales mostraba inmunorreactividad de la membrana citoplasmática (3+). El Ki-67 se consideró positivo al haber tinción nuclear. El análisis estadístico e interpretación de los resultados se realizó a través del programa *SPSS/PC* versión 11,5®.

## RESULTADOS

De los 179 casos del estudio, se observó un promedio de edad de 51,16 años, donde la edad menor fue de 28 y la mayor de 87 años, con una desviación estándar de 11,77 años. La mayoría de los tumores fueron localmente avanzados y su tamaño clínicamente muy variable, oscilando entre los 0,6 cm a 10 cm, con una

media de 4,62 cm. La afectación metastásica a los ganglios linfáticos regionales fue evidente y el grado histológico variable. La expresión inmunohistoquímica también resultó variable y en más de 50 % de los tumores se observó expresión del RE (Cuadro 2).

Al valorar el subtipo molecular de los tumores, basado en la expresión inmunohistoquímica de los biomarcadores RE, RP y Her-2 se observó predominio de los luminal seguidos del subtipo triple negativo (Cuadro 2 y 3). El p53, Bcl2 y Ki-67 se expresaron en todos los subtipos del carcinoma de mama de forma variable. El marcaje del p53 se observó en más del 60 % de los casos clasificados como Her-2+ y triple negativo, y el Bcl2 se expresó en menos del 50 % de los casos en ambos subtipos tumorales mencionados, aunque en los luminal A y B su expresión se observó en más del 80 % de los casos de cada subtipo. En cuanto al Ki-67, se apreció que en los luminal A y B el marcaje se observó en la mayoría de los casos (>85 %) dentro de cada subtipo, entretanto el Her-2+ presentó el menor porcentaje de casos que lo expresaron en relación al resto. El índice de proliferación más alto Ki-67>25 % (media 41,72) correspondió a los luminal B. No se apreció significancia estadística de la expresión de p53, Bcl2 y Ki-67 entre los subtipos (Cuadro 3). Al evaluar la caracterización molecular en relación con la edad de las pacientes, se apreció que en los tumores triple negativos la edad media en aquellas es inferior a los 50 años y superior a los

**Cuadro 1.** Anticuerpos monoclonales, clon, dilución, fuente y valores de corte.

Anticuerpo	clon	Dilución	Fuente	Valor de corte %
RE	1D5	1:100	Dako	≥ 5 (Positivo)
RP	PgR 636	1:100	Dako	≥ 5 (Positivo)
Her-2	CerbB2	1:250	Dako	< 30 (Negativo)
Ki67	MIB-1	1:100	Dako	0 (Negativo)
p53	D07	1:100	Dako	≥ 10 (Negativo)
Bcl2	124	1:100	Dako	≥ 10 (Negativo)

RE: Receptor de estrógeno; RP: Receptor de progesterona.

**Cuadro 2.** Características generales clínico-patológicas de la población de estudio.

Características *		n	%
Edad de los pacientes	< 50 años	78	43,57
	≥ 50 años	101	56,42
Estadio clínico	I	10	5,58
	II	106	59,21
	III	61	34,07
	IV	2	1,11
Tamaño tumoral	< 2 cm	6	3,35
	2-5 cm	115	64,24
	> 5 cm	58	32,40
Estatus de la axila	Sin metástasis	22	11,30
	Con metástasis	157	88,70
Grado histológico	I	77	43,01
	II	39	21,78
	III	63	35,19
Expresión inmunohistoquímica	RE	104	58,10
	RP	79	43,13
	Her-2	64	35,75
	p53	111	62,01
	Bcl2	124	69,27
	Ki-67	147	82,12
Subtipo molecular	Luminal A	76	42,45
	Luminal B	30	16,75
	Her-2+	34	18,99
	Triple negativo	39	21,79

\*n=179.

**Cuadro 3.** Distribución de los tumores de mama de acuerdo al subtipo molecular y la expresión de p53, Bcl2 y Ki-67.

Subtipo	Expresión de marcadores											
	RE		RP		Her-2		p53		Bcl2		Ki-67	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Luminal A	76/76	100	57/76	75	0/76	0	42/76	55	64/76	84	70/77	100
Luminal B	28/30	93	22/30	73	30/30	100	18/30	60	27/30	90	27/30	90
Her-2+	0/34	0	0/34	0	34/34	100	23/34	76	16/34	47	17/34	50
Triple negativo	0/39	0	0/39	0	0/39	0	25/39	64	17/39	44	33/39	85

&gt;0,05: p53, Bcl2, subtipo Her-2+, Triple negativo.

51 años en relación con los otros subtipos. Sin embargo, al analizar lo anterior, la diferencia fue significativa entre los tumores triple negativos y los luminal A, el cual presentó una edad media mayor que los restantes (Cuadro 4).

Al evaluar el subtipo molecular y el estadio clínico de acuerdo al TNM, se observó que los tumores de mama luminal correspondieron más a lesiones clínicamente estadio II, mientras los subtipos Her-2+ y triple negativo con aquellos estadios III (Cuadro 5).

En relación al subtipo molecular, el grado histológico y el estatus de la axila los tumores luminal (A/B) fueron lesiones histológicamente bien diferenciadas y los triple negativos y Her-2+ por el contrario poco diferenciados. En cuanto al compromiso de la axila por la presencia de ganglios linfáticos con metástasis, se observó mayor número de casos con axila positiva (metástasis presente) en aquellos del subtipo luminal A (Cuadro 6).

**Cuadro 4.** Distribución de los tumores según el subtipo molecular y la edad.

Subtipo	n	Edad media (años)	±DS	Valor de P		
				Luminal B	Her-2	Basal
Luminal A	76	51,79	11,64	0,098	0,019*	0,004*
Luminal B	30	51,03	13,51	-	0,140	0,163
Her-2+	34	51,44	11,86	-	-	0,075
Triple negativo	39	49,82	10,48	-	-	-

\* Diferencia significativa P<0,05

**Cuadro 5.** Distribución de los tumores de mama según el subtipo molecular y el estadio clínico.

Subtipo	TNM							
	I		II		III		IV	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Luminal A	3	30	63	59,43	9	14,75	1	50
Luminal B	2	20	21	19,81	6	9,83	1	50
Her-2+	4	40	11	10,37	19	31,14	0	0
Triple negativo	1	10	11	10,37	27	44,26	0	0
Total	10	100	106	100	61	100	2	100

**Cuadro 6.** Distribución de los tumores de mama según el subtipo molecular, el grado histológico y el estatus axilar.

Subtipo	Grado histológico						Estado de la axila			
	I		II		III		MT		s/MT	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Luminal A	59	76,62	13	33,33	4	6,34	61	38,85	15	68,18
Luminal B	15	19,48	13	33,33	2	3,17	27	17,19	3	13,63
Her-2+	0	0	9	23,07	25	39,68	31	19,74	3	13,63
Triple negativo	3	3,89	4	10,25	32	50,79	38	24,20	1	4,54
Total	77	100	39	100	63	100	157	100	22	100

MT: Metástasis presente. s/MT: sin metástasis

## DISCUSIÓN

La clasificación del carcinoma de mama ha experimentado cambios importantes en las tres últimas décadas. Hoy día en diferentes latitudes en el mundo, se expone su taxonomía molecular ciertamente como un gran avance para la comprensión de su progresión y la selección futura de la terapéutica<sup>(11,16-18)</sup>. Por obvias razones técnicas y de infraestructura su uso en nuestro país para las afectadas por la neoplasia aún no es posible, y los otros estudios de carácter multigénico con poder para predecir hasta ahora la recidiva y el pronóstico, disponibles comercialmente, resultan limitados para quienes cuentan con los medios por su elevado costo<sup>(35-37)</sup>. En ese sentido el estudio inmunohistoquímico del tumor de mama representa para todas nuestras pacientes afectadas una alternativa mucho más factible que los otros referidos en la literatura<sup>(15,21,22,24,29,30)</sup>, considerando que la neoplasia acontece en una importante población de mujeres con mayores desventajas sociales y menores recursos económicos<sup>(2-5)</sup> y que el análisis de los factores pronósticos y predictivos debe ser fácil, reproducible y relativamente económico<sup>(35)</sup> además con el beneficio de poder caracterizar a los subtipos moleculares como lo señalan diversos artículos<sup>(14,19,20,26-28,31,38-41)</sup>.

A diferencia de este estudio, otros descritos en la literatura para clasificar o caracterizar el cáncer de mama y/o en particular a algunos de los subtipos o para tratar de establecer mayores diferencias entre las categorías o señalar otros aspectos, han utilizado además de los clásicos marcadores moleculares (RE, RP, Her-2) otros como, el Her-1 (EGFR), distintos paneles de citoqueratinas (CK 5/6/8/14/17/18), p63, vimentina, p-cadherina CD10 y CD117,<sup>(14,19,26,35,38-40)</sup> de forma conjunta o en combinaciones muy distintas de acuerdo a sus planteamientos. A propósito coincidimos con algunos en la determinación de p53, Bcl2 y Ki-67 con fines de conocer mejor la neoplasia<sup>(31,42)</sup>.

Clasificando por esta técnica a los tumores

de la mama, en el presente se apreció un número importante que expresaron el receptor de estrógeno, el cual se ha reconocido como el mayor factor discriminador del subtipo molecular<sup>(12,14,21-24,27)</sup>. A propósito de lo anterior y en relación con la expresión de los otros dos marcadores solicitados de rutina como factores pronósticos y predictivos de la neoplasia, y de acuerdo con otras publicaciones se observó similitud en la distribución del subtipo molecular luminal A<sup>(19,38,42)</sup>. Sin embargo, con otros se apreció discrepancia en relación con ese hecho<sup>(14,26)</sup>. En cuanto al subtipo y la expresión de los otros marcadores moleculares (p53, Bcl2, Ki-67), un hallazgo en el presente fue la expresión de p53 en un porcentaje importante de los tumores Her-2+ y triple negativo lo que no difirió de otras publicaciones<sup>(19,21,23,41)</sup>. Sin embargo, lo que hasta ahora no se había mencionado como en el presente, es que los luminal A y B también expresan la proteína p53 en un porcentaje no despreciable de los casos en cada subtipo. En cuanto a la proteína Bcl2 su marcaje en los luminal A y B fue muy similar a lo encontrado en otro estudio<sup>(42)</sup>.

El inmunomarcaje predominante del Ki-67 en los tumores triple negativo y Her-2+ ya se había señalado en otros artículos<sup>(19,41)</sup>. Sin embargo, en el presente la expresión resultó diferente para los Her-2+ de acuerdo a lo descrito en la literatura<sup>(19,41)</sup>. Por otra parte la expresión en un número importante de tumores del subtipo luminal que llamó la atención no difirió de otra publicación y al valorar el porcentaje de núcleos teñidos de las células tumorales, coincidimos en que los luminal B expresan más bien un índice de proliferación celular más alto que los luminal A<sup>(42,43)</sup>.

En relación al subtipo molecular y las distintas características clínico-patológicas consideradas en el presente estudio, los hallazgos guardan similitud y algunas diferencias con otras publicaciones. En relación con la edad de las pacientes compartimos con otros que los carcinomas triple negativos se presentan

en aquellas por debajo de la quinta década, inclusive en pacientes mucho más jóvenes que en los otros subtipos <sup>(38,41,44,45)</sup>. Al respecto solo con un artículo, se apreció discrepancia donde la edad media fue notablemente mayor (54,8 años), y además determinaron la expresión de la CK 5/6, la cual se sabe que entre otros marcadores distingue el origen basal de las células malignas dentro del ducto mamario y caracteriza a los tumores de subtipo basal <sup>(23,30,41,46)</sup>.

En cuanto al estadio clínico existe igualmente similitudes con otros estudios donde los subtipos triple negativo y Her-2+ en particular se han encontrado en tumores que clínicamente se han clasificado como localmente avanzados <sup>(23,27,30,46)</sup>. Considerando el grado histológico y la presencia de metástasis en axila en el presente no se encontró diferencias con otros artículos de la literatura en cuanto a que los tumores Her-2+ y triple negativo son peor diferenciados, y dentro de los cuales los últimos presentan menor afectación de ganglios linfáticos regionales según el estadio clínico a diferencia de otros subtipos <sup>(27,41)</sup>. En consecuencia a lo anterior coincidimos en que los tumores luminal A son tumores bien diferenciados y en su mayoría estadificados como tumores no avanzados localmente <sup>(27,41)</sup>, pero en este estudio el hallazgo en estos de un mayor número de casos con axila positiva en relación con los otros subtipos sí difirió de otras publicaciones <sup>(27,38,41)</sup>. Algunos trabajos ya han demostrado que tumores de mama que expresan Her-2, p53 y Bcl2 tienen mal pronóstico y están relacionados con la reducción del intervalo libre de enfermedad y la sobrevida global independiente del estado de los ganglios linfáticos, el grado histológico o el tamaño tumoral <sup>(47,48)</sup>. Es claro, que la determinación de los últimos mencionados (p53, Bcl2) no se ha considerado en igual forma para conocer las características del comportamiento tumoral como sucede con el Her-2. En relación

a la actividad proliferativa del tumor ya otros han mencionado que un índice alto con frecuencia se observa en aquellos más agresivos y se asocia también por otra parte a la expresión de p53 y CK5/6 <sup>(49)</sup>.

Por lo que hasta ahora conocemos y los hallazgos que se desprenden de la valoración de la expresión de estos marcadores moleculares (p53, Bcl2 Ki-67) en conjunto a los clásicamente solicitados y realizados para el manejo terapéutico de la neoplasia, podemos señalar que la expresión de los mismos permite conocer del comportamiento teórico del tumor y un perfil inmunohistoquímico que nos aproxima a diferenciaciones de la caracterización molecular que amerita más estudio. En particular lo obtenido con este parece apuntar que hay diferencias entre los inmunofenotipos considerados, de tal forma que la clasificación así expuesta permitiría discernir formas con diferente pronóstico en nuestras pacientes aunque son necesarios estudios de seguimiento para confirmar este punto. En numerosas publicaciones se ha propuesto la determinación de distintas proteínas moleculares para hacer una clasificación más exacta por inmunohistoquímica del subtipo tumoral considerado de peor pronóstico como es el basal. Sin embargo, al respecto y aunque significa un pequeño avance en ese sentido, es muy probable que se estén dejando de conocer la expresión de otras proteínas moleculares que pudiesen explicar mejor la razón de un comportamiento no esperado para aquellos subtipos de mejor pronóstico.

Por último, aun cuando reconocemos que no existe un consenso nacional o internacional para elegir un panel de anticuerpos que permita establecer aún más diferencias entre los distintos subtipos moleculares, el diagnóstico definitivo de esta neoplasia no debe darse por concluido si al menos no se tiene dicha orientación.

## REFERENCIAS

1. Lozano AR, Gómez DH, Lewis S, Torres SL, López CL. Tendencias del cáncer de mama en América Latina y el Caribe. *Salud Pública Méx.* 2009;51(Suppl 2):147-156.
2. Bossetti C, Malvezzi M, Chatenoud L, Negri E, Levi F, La Vecchia C. Trends in cancer mortality in the Americas, 1977-2000. *Ann Oncol.* 2005;16(3):489-511.
3. Porter P. "Westernizing" women's risk? Breast cancer in lower-income countries. *N Engl J Med.* 2008;58(3):4.
4. Anderson BO. Situación de la salud mamaria en el mundo y en Latinoamérica en particular. *Rev Med Clin Condes.* 2006;17(4):137-141.
5. Phillips AA, Jabcoson JS, Magai C, Consedine N, Horowicz-Meller NC, Neugut AI. Cancer incidence and mortality in the Caribbean. *Cancer Invest.* 2007;25(6):476-483.
6. Anuario de Mortalidad 2004. Venezuela. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Disponible en: URL:[http://www.mps.gov.ve/ms/direcciones\\_msds/epidemiología/estadística/archivos/anuarios.htm](http://www.mps.gov.ve/ms/direcciones_msds/epidemiología/estadística/archivos/anuarios.htm).
7. Anuario de mortalidad 2006. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Disponible en: URL:[http://www.mpps.gov.ve/ms/direcciones\\_msds/epidemiología/estadística/index.htm](http://www.mpps.gov.ve/ms/direcciones_msds/epidemiología/estadística/index.htm).
8. Rebolledo V, Sucre L, Capocéfallo M, Saldivia F. Cirugía de rescate en carcinoma de mama localmente avanzado. *Salus Online.* 2009;3(3):14-19.
9. Clark GM. Prognostic and predictive factors. *Breast Cancer.* 1995;2(2):79-89.
10. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists consensus statement 1999. *Arch Pathol Lab Med.* 2000;124(7):966-978.
11. Colozza M, Cardoso F, Sotiriou C, Larsimont D, Piccart MJ. Bringing molecular prognosis and prediction to the clinic. *Clin Breast Cancer.* 2005;6(1):61-76.
12. 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(6797):747-752.
13. Singletary SE, Connolly JL. Breast cancer staging: Working with the sixth edition of the AJCC Cancer Staging Manual. *CA Cancer J Clin.* 2006;56(1):37-47.
14. Carey L, Perou C, Livasy C, Dressler L, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina breast cancer study. *JAMA.* 2006;295(21):2492-2502.
15. 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(29):7350-7360.
16. Hidalgo-Miranda A, Jiménez-Sánchez G. Bases genómicas del cáncer de mama: avances hacia la medicina personalizada. *Salud Pública Mex.* 2009;51(Supl 2):197-207.
17. Valdespino-Gómez VM, Valdespino-Castillo VE. Terapias moleculares dirigidas en los pacientes con cáncer: logros y perspectivas. *Gac Méd Méx.* 2008;144(4):333-344.
18. Rodríguez-Cuevas SA, Luna-Arias JP. Impacto de las firmas genómicas en la decisión terapéutica del cáncer de mama. *Cir Ciruj.* 2007;75(6):415-417.
19. Piñero-Madróna A, Polo-García L, Alonso-Romero JL, Salinas-Ramos J, Canteras-Jordana M, Sola-Pérez J, et al. Características inmunohistoquímicas del cáncer de mama: ¿hacia una nueva clasificación? *Cir Esp.* 2008;84(3):138-145.
20. Reigosa A, Fernández Á, Gutiérrez D, Caleiras E, Hardisson D, Espig H, et al. Expresión de p63 y citoqueratina 5/6 en los diferentes tipos moleculares del carcinoma de mama. *Rev Esp Patol.* 2010;(2)43:79-85.
21. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumour subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98(19):10869-10874.
22. Pusztai L, Ayers M, Stec J, Clark E, Hess K, Stivers D, et al. Gene expression profiles obtained from fine-needle aspirations of breast cancer reliably identify routine prognostic markers and reveal large-scale molecular differences between estrogenic-negative and estrogenic-positive tumours. *Clin Cancer Res.* 2003;9(7):2406-2415.
23. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumour subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100(14):8418-8423.
24. Sotiriou C, Neo SY, McShane LM, Korn EL, Long

- PM, Jazaeri A, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(18):10393-10398.
25. Mauriac L, Debled M, MacGrogan G. When will more useful predictive factors be ready for use? *Breast*. 2005;14(6):617-623.
  26. Livasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova MS, Olopade OI, Moore DT, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol*. 2006;19(2):264-271.
  27. Zepeda-Castilla EJ, Recinos-Money E, Cuéllar-Hubbe M, Robles-Vidal CD, Maafs-Molina E. Clasificación molecular del cáncer de mama. *Cir Ciruj*. 2008;76(1):87-93.
  28. Wiechmann L, Sampson M, Stempel M, Jacks LM, Patil SM, King T, et al. Presenting feature of breast cancer differs by molecular subtype. *Ann Surg Oncol*. 2009;16(10):2705-2710.
  29. Callagy G, Cattaneo E, Daigo Y, Happerfield L, Bobrow LG, Pharoah PD, et al. Molecular classification of breast carcinomas using tissue microarrays. *Diagn Mol Pathol*. 2003;12(1):27-34.
  30. 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(16):5367-5374.
  31. Jacquemier J, Ginestier C, Rougemont J, Bardou VJ, Charafe-Jauffret E, Geneix J, et al. Protein expression profiling identifies subclasses of breast cancer and predicts prognosis. *Cancer Res*. 2005;65(3):767-779.
  32. 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(21):1571-1581.
  33. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 4ª edición. México: McGraw Hill; 2006.
  34. Dawson B, Trapp G. Bioestadística médica. 2ª edición. México DF: Manual moderno; 1997.
  35. Eden P, Ritz C, Rose C, Fernon M, Peterson C. "Good old" clinical markers have similar power in breast cancer prognosis as microarray gene expression profilers. *Eur J Cancer*. 2004;40(12):187-1841.
  36. Bitacora médica. Disponible en: URL: <http://blog.bitacoramedica.com/archivo/20725>.
  37. Pusztai L, Mazouni C, Anderson K, Wu Y, Symmans WF. Molecular classification of breast cancer: Limitations and potential. *Oncologist*. 2006;11(8):868-877.
  38. Uribe JR, Hernández CA, Menolascino F, Rodríguez JE, Istúriz LM, Márquez ME, et al. Clasificación molecular del cáncer de mama y su correlación clínica. *Rev Venez Oncol*. 2010;22(2):109-116.
  39. Ramírez K, Bianchi G. Carcinoma de la mama triple negativo aspectos morfológicos y expresión de Ck 5/6. *Rev Venez Oncol*. 2011;23(1):2-13.
  40. 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(3):107-110.
  41. Jorge BD, Zarate OA. Carcinoma mamario con inmunofenotipo similar al de células basales. Estudio morfológico y perfil de expresión inmunohistoquímica en 54 casos triple negativos. *Patol*. 2008;46(3):303-308.
  42. Matos I, Dufloth R, Alvarenga M, Zeferino LC, Schmitt F. P63, cytokeratin 5, and P-cadherin: Three molecular markers to distinguish basal phenotype in breast carcinomas. *Virchows Arch*. 2005;447(4):688-694.
  43. Sotiriou C, Pusztai L. Gene-expression signatures in breast cancer. *N Engl J Med*. 2009;360(8):790-800.
  44. Reis-Filho JS, Tutt AN. Triple negative tumors: A critical review. *Histopathology*. 2008;52(1):108-118.
  45. Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: A population-based study from the California cancer registry. *Cancer*. 2007;109(9):1721-1728.
  46. Rakha EA, Reis-Filho JS, Ellis IO. Basal-like breast cancer: A critical review. *J Clin Oncol*. 2008;26(15):2568-2581.
  47. Morales L, Reigosa A, Caleiras E, Mora R, Marrero N, Payares E, et al. Expresión del HER2/neu en pacientes venezolanas con cáncer de mama localmente avanzado. *Invest Clin*. 2008;49(1):69-78.
  48. Tsutsui S, Yasuda K, Suzuki K, Takeuchi H, Nishizaki T, Higashi H, et al. Bcl-2 protein expression is associated with p27 and p53 protein expressions and MIB-1 counts in breast cancer. *BMC Cancer*. 2006;6(1):187.
  49. Olaya-Guzmán EJ. Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas. 2010;15(4):228-236.