

## Expresión de los receptores hormonales (RE/RP) y sobreexpresión de la proteína HER-2/neu en carcinoma ductal infiltrante

Expression of hormone receptors (ER / PR) and HER-2/neu protein overexpressing in breast invasive ductal carcinoma

Olga T. Anteliz B.<sup>1</sup>, Jaime O. Ayala<sup>1</sup>., Carlos A. Garcia.<sup>2</sup>, Laura I. Valencia<sup>3</sup>, Olga M. Álvarez O.<sup>2</sup>

### RESUMEN

**Introducción:** El grado de diferenciación tumoral, la expresión de los receptores de estrógeno y progesterona y la sobreexpresión de la proteína HER-2/neu son factores de tipo pronóstico y predictivo importantes en la evolución y conducta terapéutica del carcinoma mamario infiltrante. Se ha encontrado en diversos estudios que los inmunofenotipos que no expresan los receptores hormonales o que sobre expresan la proteína HER-2/neu se asocian con pobre diferenciación tumoral. **Objetivo:** Determinar el perfil inmunofenotípico del carcinoma ductal infiltrante y establecer su relación con el grado de diferenciación tumoral. **Metodología:** Usando técnicas de inmunohistoquímica se determinaron los receptores de estrógeno (RE) y progesterona (RP), y la sobreexpresión de la proteína HER-2/neu en muestras de carcinoma ductal infiltrante y se identificaron sus fenotipos basados en la clasificación de Cheang. La variedad histológica y el grado de diferenciación tumoral en los carcinomas ductales infiltrantes fueron evaluados en tejido coloreado con hematoxilina-eosina. **Resultados:** Se incluyeron las muestras de 58 pacientes con carcinoma ductal infiltrante. El 15,5% de los carcinomas eran bien diferenciados, 63,8% moderadamente diferenciados y el 20,7% restante pobremente diferenciados. El inmunofenotipo triple negativo se presentó en 29,3% de las muestras, HER2+ en el 20,7%, luminal/HER2+ en el 1,7%, luminal A en el 43,1% y ER-/PR+/HER2- en el 5,2%. **Conclusiones:** En nuestro estudio, no se encontró asociación entre el grado de diferenciación tumoral y los inmunofenotipos. *Salud UIS 2011; 43 (2): 149-158*

**Palabras clave:** Carcinoma ductal infiltrante, grado de diferenciación tumoral, receptores de estrógenos y progesterona, HER-2/neu

<sup>1</sup> Departamento de Ciencias Básicas, Escuela de Medicina, Bucaramanga, Universidad Industrial de Santander.

<sup>2</sup> Departamento de Patología, Escuela de Medicina, Bucaramanga, Universidad Industrial de Santander.

<sup>3</sup> Centro de Investigaciones Epidemiológicas, Universidad Industrial de Santander.

**Correspondencia:** Olga T. Anteliz. Bacterióloga, Facultad de Salud, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Industrial de Santander, Carrera 32 No 29-31, Bucaramanga, Colombia, Telefax: (7) 6455396, E-mail: olganteliz@hotmail.com

**Recibido:** 20 de mayo de 2011 **Aprobado:** 16 de agosto de 2011

## ABSTRACT

**Introduction:** The degree of tumor differentiation, the expression of estrogen and progesterone receptors and HER-2/neu protein overexpressing are important prognostic and predictive factors in the evolution and therapeutic management of invasive breast carcinoma. In different studies were found that the immunophenotypes that do not express hormonal receptors or the HER-2/neu protein overexpressing have been associated with poor tumor differentiation. **Purpose:** To determine the immunophenotypic profile of invasive ductal carcinoma and establish its relationship with the histological grade. **Methodology:** Using immunohistochemistry were determined the estrogen receptor (ER) and progesterone (PR) and HER-2/neu protein overexpression in invasive ductal carcinoma samples and their phenotypes were identified based on classification of Cheang. The histological subtype and degree of tumor differentiation in invasive ductal carcinomas were evaluated in tissue stained with hematoxylin-eosin. **Results:** In this study were included 58 patients with invasive ductal carcinoma. 15.5% of the carcinomas were well differentiated, 63.8% moderately differentiated and the remaining 20.7% poorly differentiated. The triple-negative immunophenotype was show in 29.3% of the samples, HER2+ in the 20.7%, luminal/HER2 + in the 1.7%, luminal A in the 43.1% and the phenotype (ER-/PR+/HER2) in the 5.2%. **Conclusions:** In this study don't was found association between the degree of tumor differentiation and the immunophenotypes. *Salud UIS 2011; 43 (2): 149-158*

**Keywords:** Invasive ductal carcinoma, degree of tumor differentiation, estrogen and progesterone receptors, HER-2/neu

## INTRODUCCIÓN

El carcinoma de mama es una enfermedad cuya etiología es desconocida, presenta múltiples factores de riesgo; su clasificación, comportamiento clínico y respuesta al tratamiento varía de acuerdo con sus características morfológicas y moleculares, lo que hace complejo su manejo<sup>1</sup>.

Informes de la Agencia Internacional para la investigación sobre el cáncer registran una tasa de incidencia ajustada por 100.000 habitantes, de 37,4 en el mundo, 67,8 en países industrializados, 23,8 en subdesarrollados y de 30,3 en Colombia<sup>2</sup>. La tasa de 37,3 encontrada en el área metropolitana de Bucaramanga entre los años 2000 y 2004 supera las cifras nacionales e iguala la tasa mundial<sup>3</sup>.

Para definir los subtipos biológicos del cáncer mamario, Cheang et al<sup>4</sup> utilizaron un primer esquema basado en la expresión de los receptores para estrógeno (RE) y progesterona (RP) y la sobreexpresión de la proteína HER-2/neu (Receptor tirosina quinasa), estableciendo los fenotipos triple negativo (FTN), HER2+, el luminal A y el luminal/HER2+, (Tabla 1). Con la posterior introducción de los biomarcadores para los receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y la citoqueratina 5/6 (CK5/6), se redefinió el FTN, creando un segundo esquema con dos nuevos fenotipos, el fenotipo basal (core basal) y el fenotipo quintuple negativo (5NP). Para el presente trabajo se tuvo en cuenta el primer esquema de clasificación más un quinto perfil definido como RE-/PR+/HER2-

en estudios realizados por William et al<sup>5</sup>, Kenneth Chu et al<sup>6</sup> y Gerson et al<sup>7</sup>. La ausencia de expresión de los receptores hormonales y la sobreexpresión de la proteína HER-2/neu en los carcinomas ductales infiltrantes se ha relacionado directamente con los fenotipos de mal pronóstico (FTN y HER2+), los cuales se han asociado con mayor frecuencia de recurrencia, un patrón metastásico agresivo y alta mortalidad<sup>8</sup>.

Existen numerosos estudios que han intentado establecer factores pronósticos para el comportamiento clínico del carcinoma mamario teniendo en cuenta sólo parámetros morfológicos. Entre los métodos más utilizados encontramos el sistema de graduación histológica de diferenciación tumoral de Scarff Bloom Richardson, en el cual se evalúa la formación de túbulos, el pleomorfismo nuclear y el conteo mitótico. Cuando además de los criterios mencionados se tiene en cuenta la evaluación del estado de los nódulos linfáticos y el tamaño del tumor se determina el índice pronóstico de Nottingham (IPN)<sup>1</sup>.

El presente estudio busca establecer la relación entre el perfil inmunofenotípico del carcinoma ductal infiltrante de mama y el grado de diferenciación tumoral en muestras de pacientes con carcinoma mamario infiltrante, analizadas en el laboratorio del Departamento de Patología de la Universidad Industrial de Santander y Empresa Social del Estado Hospital Universitario de Santander (ESE-HUS) en el período comprendido entre julio del 2009 y marzo de 2011.

## METODOLOGÍA

### Diseño y población

Este es un estudio de corte transversal; en el que se incluyeron las biopsias de pacientes diagnosticadas como carcinoma ductal infiltrante en el Laboratorio de Patología de la Universidad Industrial de Santander – Empresa Social del Estado Hospital Universitario de Santander entre julio de 2009 y marzo de 2011.

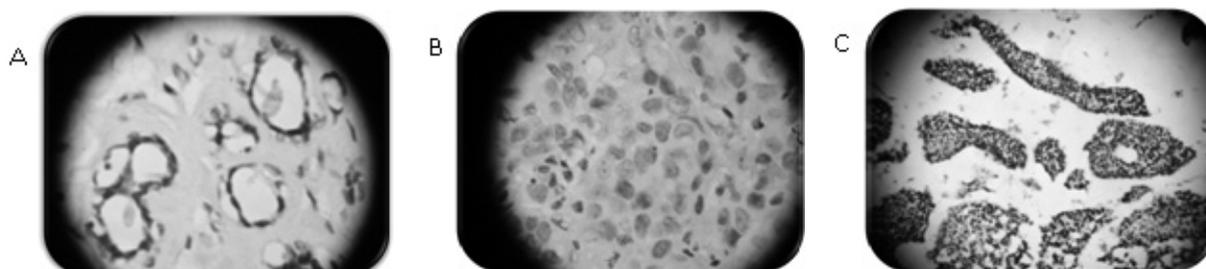
### Metodología

Las muestras incluidas en parafina fueron cortadas con un espesor de dos a tres micras. Una lámina fue coloreada con hematoxilina-eosina para la evaluación del grado de diferenciación tumoral basado en la escala de Bloom Richardson modificada por Elston y Ellis (**Tabla 2**). La confirmación del diagnóstico y grado de diferenciación tumoral fueron realizados por un médico patólogo. En el estudio inmunohistoquímico se utilizaron anticuerpos monoclonales de conejo SP1, SP2 y SP3 de la marca Neo Markers® para la evaluación de los receptores hormonales de estrógenos, progesterona y sobreexpresión de la proteína HER-2/

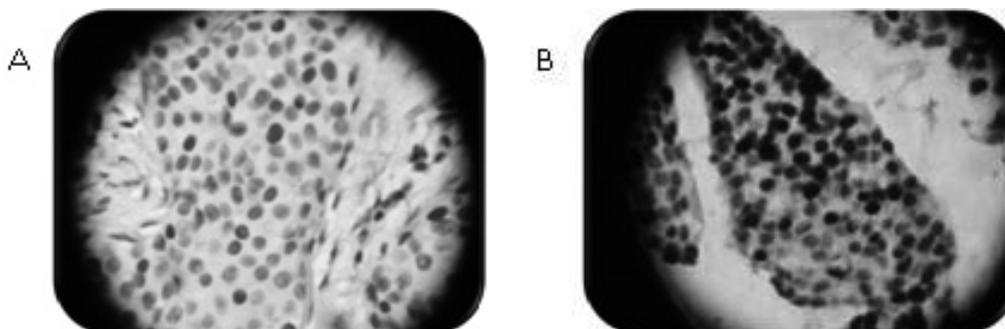
neu respectivamente. El procedimiento realizado en tres láminas, incluye desparafinación, recuperación antigénica con buffer citrato, bloqueo de peroxidasas endógenas y exógenas y revelado con diaminobenzidina. Las láminas fueron coloreadas, para obtener un contraste, con hematoxilina.

La calidad de la técnica tanto para los receptores hormonales como para la sobreexpresión de la proteína HER-2/neu se evaluó mediante el uso de controles externos de inmunoreactividad conocida y como control interno para los receptores hormonales se utilizó el tejido epitelial no tumoral existente en cada muestra.

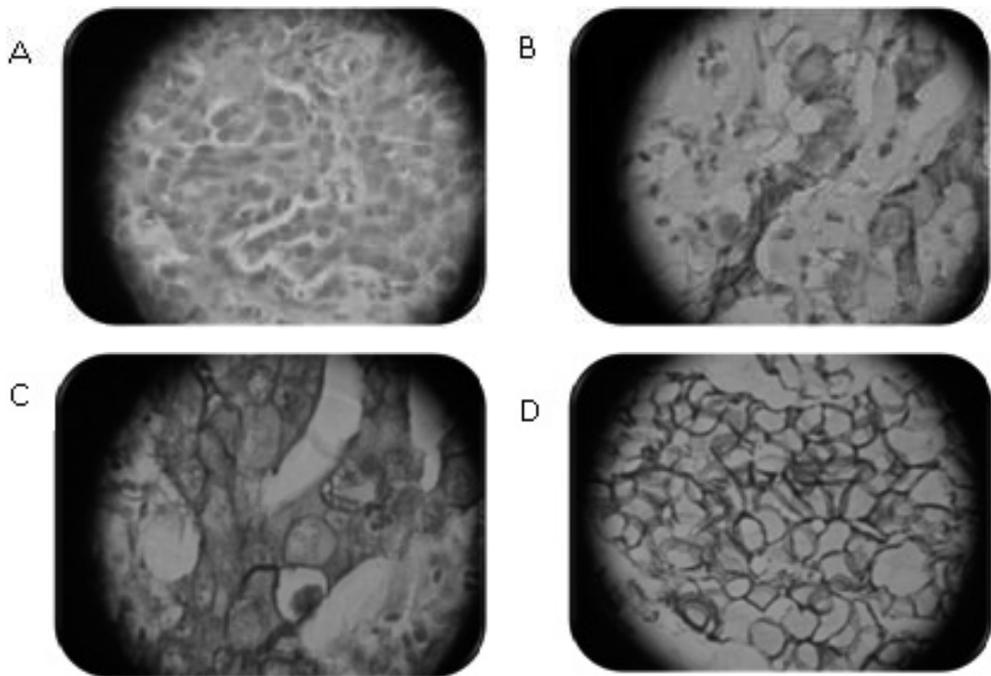
La lectura de las placas de inmunohistoquímica fue realizada por dos médicos patólogos, quienes para la valoración de los receptores hormonales contaron 500 células neoplásicas, tomadas de zonas representativas del tumor, en las cuales se determinó el porcentaje que presentaba inmunoreactividad nuclear, (**Figura 1 y 2**). Para el estudio de la sobreexpresión de la proteína HER-2/neu se evaluó la intensidad y distribución de la tinción en la membrana citoplasmática de las células tumorales, (**Figura 3**).



**Figura 1.** Estudio inmunohistoquímico para Receptores de Estrógenos, donde se observa en A. Control interno con inmunoreactividad positiva. B. Receptores de estrógenos inmunoreactividad débil. C. Receptores de estrógenos inmunoreactividad fuerte. Observación en 40X.



**Figura 2.** Estudio inmunohistoquímico para Receptores de Progesterona, donde se observa en A. Receptores de progesterona con inmunoreactividad débil y moderada. B. Receptores de progesterona inmunoreactividad fuerte. Observación en 40X.



**Figura 3.** Estudio inmunohistoquímico, donde se observa en A. HER-2/neu negativo Grado 0. B. HER-2/neu negativo Grado 1+. C. HER-2/neu equivoco Grado 2+. D. HER-2/neu positivo Grado 3+. Observación en 40X.

La interpretación de la sobreexpresión de la proteína HER-2/neu y los receptores hormonales se basó en los criterios establecidos en los consensos del 2007<sup>9</sup> y del 2010<sup>10</sup> respectivamente, publicados por The American Society of Clinical Oncology (ASCO) and the College of American Pathologists (CAP). (Tabla 3 y 4). A las muestras de aquellos casos donde la sobreexpresión de la proteína HER-2/neu fue equivocada (2+) se les evaluó

la amplificación del gen c-erb B2 mediante la técnica de FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) para esclarecer así, su resultado.

Una vez realizadas todas las evaluaciones, se definieron los inmunofenotipos basados en la determinación de los receptores hormonales y la sobreexpresión de la proteína HER-2/neu. (Tabla 1).

**Tabla 1.** Perfil molecular del cáncer de mama determinado por tres biomarcadores (ER/PR/HER-2/neu).

Fenotipo	ERa		PRb		HER2/neuc
FTNd *	Negativo	y	Negativo	y	Negativo
HER2+ *	Negativo	y	Negativo	y	Positivo
Luminal A *	Positivo	o	Positivo	y	Negativo
Luminal/HER2+ *	Positivo	o	Positivo	y	Positivo
ER-/PR+/HER2+ **	Negativo	y	Positivo	y	Negativo

Fuente: \*Cheang M, et al<sup>4</sup> \*\*William A, et al<sup>5</sup>

<sup>a</sup>Receptor de estrógenos; <sup>b</sup>Receptor de progesterona; <sup>c</sup>Receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2; <sup>d</sup>Fenotipo triple negativo.

**Tabla 2.** Clasificación histológica del grado de diferenciación tumoral para el carcinoma ductal convencional infiltrante de mama según método de Elston- Ellis<sup>11</sup>.

Características Histológicas	Puntaje
Formación de Túbulos (Dentro del tumor)	
>75%	1
10-75%	2
<10%	3
Pleomorfismo nuclear	
Pequeños, regulares y uniformes	1
Moderada variación de forma y tamaño	2
Marcada variación de forma y tamaño	3
Conteo mitótico en 10 campos de alto poder (Depende del área del campo del microscopio)	
Diámetro del campo de 0.44 mm / área del campo 0.152 mm <sup>2</sup>	
0 – 5	1
6 – 10	2
> 11	3
Diámetro del campo de 0.59mm / área del campo 0.274 mm <sup>2</sup>	
0 – 9	1
10 - 19	2
> 20	3
Score Total	
3 - 5: Grado I, Bien diferenciado	
6 – 7: Grado II, Moderadamente diferenciado	
8 – 9: Grado III, Mal diferenciado	

Fuente: Citado por Jaramillo R y col<sup>11</sup>

**Tabla 3.** Escala de lectura e interpretación de la sobreexpresión de la proteína HER-2/neu determinada por inmunohistoquímica.

Resultado	Interpretación
Negativo	0 Membrana celular no coloreada
	1+ Coloración incompleta de membrana celular en cualquier proporción de células tumorales
Equívoco	2+ Membrana con coloración completa no uniforme o débil en intensidad con distribución circunferencial en al menos 10% de células tumorales
Positivo	3+ Membrana con coloración intensa y uniforme en mayor 30% de células tumorales invasivas

Fuente: Wolff AC, et al<sup>9</sup>.

**Tabla 4.** Escala de lectura e interpretación de la expresión de los receptores hormonales ER/PR determinados por inmunohistoquímica.

Resultado	Interpretación
Negativo	<1% Núcleos inmunorreactivos en células tumorales y control interno positivo
Positivo	≥1% Núcleos inmunorreactivos en células tumorales
No interpretable	No se observan núcleos inmunorreactivos en células tumorales y control interno negativo

Fuente: Hammond ME, et al<sup>10</sup>.

Se utilizó un microscopio Olympus CH30 en objetivo de 40X para la evaluación del sistema de graduación tumoral, la determinación de los receptores hormonales y la sobreexpresión de la proteína HER-2/neu.

### Análisis estadístico

El estudio estadístico se realizó mediante un análisis descriptivo de las variables y algunas características de la población como la menarquia, tiempo de lactancia, edad del primer embarazo y número de partos. La prueba exacta de Fischer fue utilizada para buscar la asociación entre los inmunofenotipos y el grado de diferenciación tumoral.

## RESULTADOS

### Características de la población

Durante el período de estudio se evaluaron 58 pacientes cuyas edades oscilaron entre 29 y 81 años con promedio (X) de 55 años. La edad de la menarquia tuvo un rango de nueve a 18 años (X:13,22 y desviación estándar (DS) de 1,73); el tiempo promedio de duración de la lactancia fue de 17,94 meses (DS:13,24); en cuanto a la edad del primer embarazo el promedio fue de 22,37 años, con una mediana (M) de 21 y Rango intercuartílico (RIC) de 15 - 40 años; el número de embarazos (M:3, RIC: 2-5); el número de partos (M:3, RIC:2 - 4). Dentro de los antecedentes de existencia de neoplasias previas se encontró que una paciente presentó carcinoma de mama, otra presentó cáncer de cuello uterino y otra en cabeza.

### Inmunofenotipos y grado de diferenciación tumoral

El promedio de edad encontrado en las pacientes clasificadas por fenotipo es 54 años con rango de 37 a 76 años para FTN; 52 años con rango de 29 a 73 para el fenotipo HER2+; 57 años para el fenotipo luminal/HER2+; 57 años con rango de 31 a 81 para el fenotipo luminal A y 51 años con rango de 41 a 58 años para el fenotipo (ER- PR+ HER2-).

Las variables en estudio se muestran en la tabla 5, donde de acuerdo con la definición de los inmunofenotipos se observa que el 29,3% fueron FTN; 20,7% fenotipo HER2+; 1,7% fenotipo luminal/HER2+; 43,1% fenotipo luminal A y 5,2% fenotipo (ER-/PR+/HER2-).

Conforme a la evaluación del grado de diferenciación tumoral se encontró que el 15,5% fueron grado I; 63,8% grado II y el 20,7% grado III; de las nueve pacientes con grado de diferenciación tumoral I se tiene que el 22,2% son fenotipo triple negativo; 11,1% es fenotipo HER2+

y el 66,7% son fenotipo luminal A; en las 37 pacientes que presentaron grado de diferenciación tumoral II, el 29,7% es FTN; 16,2% es fenotipo HER2+; 2,7% es fenotipo luminal/HER2+; el 43,2% es fenotipo luminal A y el 8,1% es fenotipo (ER-/PR+/HER2-); de las 12 pacientes que presentaron grado de diferenciación tumoral III se encontró que el 33,3% es FTN; el 41,7% es fenotipo HER2+ y el 25,0% es fenotipo luminal A.

## DISCUSIÓN

La edad promedio (55,0 años) registrada en el presente estudio es consistente con los hallazgos obtenidos por Jaramillo et al en Cali-Colombia<sup>11</sup> cuya edad promedio fue de 55,3 años y con el Registro Poblacional de Cáncer del Área Metropolitana de Bucaramanga-Colombia (año 2007)<sup>3</sup>. Estos resultados se encuentran por debajo de los registrados (64,0 años) en la literatura de referencia<sup>12</sup> y por encima de la edad promedio (49,9 años) de un estudio realizado en el Reino Unido por Rakha et al<sup>13</sup>.

En las muestras estudiadas el fenotipo de mayor frecuencia fue el luminal A con una presentación de 43,1%, seguido por el FTN con 29,3%, el fenotipo HER2+ con 20,7%, el fenotipo (ER-/PR+/HER2-) con un 5,2% y el fenotipo luminal/HER2+ con 1,7%. El fenotipo más frecuente fue el luminal A, al igual que lo descrito por Bhargava et al<sup>14</sup> y Gerson et al<sup>7</sup> con reportes del 55% y 47,3% respectivamente.

El hallazgo del fenotipo HER2+ en la población de estudio es semejante a lo establecido por Perou et al<sup>22</sup> con un 20-30%; Owens et al<sup>23</sup>, quienes encontraron un 20%, y Gerson et al<sup>7</sup> con un 22,7%, pero superior al registrado por Bhargava et al<sup>14</sup> quienes sólo reportaron un 13%.

Las cifras obtenidas para el fenotipo luminal/HER+ son menores que los encontrados en estudios como el de Bhargava et al donde fué del 5%<sup>14</sup> y en el de Rakha et al<sup>13</sup> donde correspondieron al 12,7%, esta diferencia puede atribuirse al tamaño de la muestra. Caso similar se evidenció para el fenotipo (ER-/PR+/HER2-) cuyos datos son inferiores al 14,5% registrado en el estudio de Gerson et al<sup>7</sup>.

El hallazgo obtenido en nuestra investigación para el FTN (30,8%) dobla en cantidad los datos de los estudios de Bhargava et al<sup>14</sup> y Gerson et al<sup>7</sup> quienes registran un 15,6% y un 15,4% respectivamente y los expuestos en la revisión de Foulkes<sup>15</sup> quien determinó su presencia entre el 12 y el 17%. Nuestros hallazgos son similares a los encontrados por Díaz et al<sup>21</sup> en una población similar a la nuestra de la ESE-HUS donde se evidencia que el FTN es de 28,57%.

Tabla 5. Resultados

	Fenotipo											
	Total		TNP <sup>a</sup>		HER2+ <sup>b</sup>		Luminal/ HER2+		Luminal A		ER <sup>e</sup> -/PR <sup>d+</sup> /HER2- <sup>b</sup>	
	Cant <sup>f</sup>	%	Cant	%	Cant	%	Cant	%	Cant	%	Cant	Porcentaje
Edad												
Promedio general	55		54		52		57		57		51	
Edad mínima	29		37		29				31		41	
Edad máxima	81		76		73				81		58	
Variedad CDJ <sup>e</sup>	58	100,00%	17	29,30%	12	20,70%	1	1,70%	25	43,10%	3	5,20%
Grado de diferenciación tumoral	9	15,50%	2	22,20%	1	11,10%	0	0,00%	6	66,70%	0	0,00%
Grado II	37	63,80%	11	29,70%	6	16,20%	1	2,70%	16	43,20%	3	8,10%
Grado III	12	20,70%	4	33,30%	5	41,70%	0	0,00%	3	25,00%	0	0,00%
Total	58	100,00%	17	29,30%	12	20,70%	1	1,70%	25	43,10%	3	5,20%

Cuadro de resultados obtenidos. <sup>a</sup>Fenotipo Triple Negativo. <sup>b</sup>Receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2. <sup>c</sup>Receptor de Estrógenos. <sup>d</sup>Receptor de Progesterona. <sup>e</sup>Carcinoma Ductal Infiltrante. <sup>f</sup>Cantidad.

Al analizar nuestros resultados de FTN se puede pensar que este hallazgo podría estar afectado por la sensibilidad y la especificidad de los clones usados. La ASCO/CAP, en el consenso del 2010<sup>10</sup>, recomiendan que para la determinación de los receptores de estrógenos se deben utilizar los clones 6F11, 1D5, ER.2.123+1D5 o SP1, siendo este último el usado en este estudio. En la determinación de los receptores de progesterona sugieren el uso de los clones 1294, 1A6 y 312; el clone SP2 utilizado en este estudio no se encuentra listado dentro de los recomendados, sin embargo Huang Zhida et al<sup>16</sup> y Cano et al<sup>17</sup> realizaron estudios (n=107 y n=40 respectivamente) comparativos entre los clones 1A6 y SP2, concluyendo que el clone SP2 presenta una sensibilidad y especificidad equiparable con el clone 1A6 recomendado por la ASCO/CAP.

La ASCO/CAP en el consenso del 2007<sup>9</sup> propone el uso de los clones A085 (anticuerpo policlonal-Hercept test-Dako) y el clone CB11 (anticuerpo monoclonal) para la determinación del HER-2/neu). El estudio de Hanley et al<sup>18</sup> en 52 casos estableció una concordancia de 94,1% entre el SP3 y el FISH, resultados similares a de Wludarski y Bacchi (n=179), quienes también compararon el clone SP3 con el del Hercept Test encontrando concordancias similares con el FISH de 94,6% y 95,1%, respectivamente<sup>19</sup> mientras que el estudio realizado por Nassar et al en 52 casos refiere una concordancia similar (93,8%) entre el SP3 y el FISH pero de 46,9% entre el Hercept Test y el FISH<sup>20</sup>. Un hallazgo importante establecido por Wludarski es la ventaja del SP3 sobre el Hercept Test en su poder discriminatorio (72,1% contra 34,1%)<sup>19</sup>. Por todo lo anterior, asumimos que los clones usados en nuestro trabajo para la evaluación de los biomarcadores PR y HER-2/neu son equivalentes a los sugeridos por el consenso dada su sensibilidad y especificidad.

La técnica usada en los procedimientos podría haber afectado los resultados de nuestra investigación, y para asegurar la calidad de las mediciones, se usaron controles externos de inmunoreactividad conocida, los cuales fueron satisfactorios en todos los casos evidenciando una calidad óptima de las mediciones.

Las anteriores consideraciones y la consistencia de nuestros resultados con los de Díaz et al, nos llevan a pensar que el alto porcentaje del FTN obedece a una característica propia de la población evaluada, por lo que se hace necesario la realización de estudios complementarios con otros biomarcadores como EGFR y CK 5/6.

El grado de diferenciación tumoral describe las diferencias microscópicas que presentan las células tumorales respecto de las células normales de un mismo tejido en apariencia y función. Su determinación es importante porque establece el pronóstico del paciente y orienta la conducta terapéutica, al igual que lo hace la expresión de los receptores de estrógenos y progesterona y la sobreexpresión de la proteína HER-2/neu.

En la literatura se ha relacionado la buena diferenciación tumoral con la expresión casi invariable de los receptores de estrógenos y la pobre diferenciación con desarrollo de metástasis, evento que empeora el pronóstico<sup>1</sup>.

En nuestro estudio se identificó el grado de diferenciación tumoral II como predominante en los fenotipos determinados y no se estableció una asociación entre éstos y el grado de diferenciación tumoral (prueba exacta de Fischer p=0,541).

Rakha et al, en su revisión de 2010<sup>1</sup> refieren que los carcinomas mamarios que presentan grado de diferenciación tumoral III, tienden a ser recurrentes y a hacer metástasis en los 8 años subsiguientes al diagnóstico y aquellos carcinomas bien diferenciados presentan un mejor pronóstico. En el metaanálisis realizado por Desmedt et al<sup>8</sup> se concluye que el FTN y el fenotipo HER2+ están asociado a un mal pronóstico. En otro estudio por Rakha et al<sup>13</sup> realizado en 1944 casos se describió una asociación entre el FTN y un mayor tamaño tumoral, pobre grado de diferenciación tumoral, mayor recurrencia, menor supervivencia y patrón metastásico agresivo. En nuestro estudio la mayoría de los fenotipos triple negativo (11/17) y HER2+ (6/12) presentaron grado de diferenciación tumoral II, sin embargo 2/17 pacientes con FTN y 1/12 paciente con fenotipo HER2+ presentaron grado de diferenciación tumoral I.

Los fenotipos relacionados con buen pronóstico son los que expresan los receptores hormonales y su grado de diferenciación tumoral es bueno o moderado<sup>12</sup>. En este estudio, los fenotipos luminal/HER2+, luminal A y (ER-/PR+/HER2-) presentaron en su mayoría grado de diferenciación tumoral II.

## CONCLUSIONES

No se encontró asociación entre los inmunofenotipos y el grado de diferenciación tumoral en las muestras estudiadas.

Los hallazgos obtenidos del FTN en la población estudiada, generan una hipótesis alrededor de una frecuencia del FTN que podría ser superior a la registrada en la literatura y crean un interrogante acerca de los factores que podrían estar influyendo en este aparente incremento.

Es necesario incluir en el análisis de futuros estudios las condiciones pre analíticas del proceso: la manipulación del tejido en sala de cirugía, el control de los tiempos de isquemia caliente y frío, la inmersión inmediata del tejido en la sustancia fijadora, la técnica de procesamiento de la muestra en el laboratorio para garantizar la adecuada preservación antigénica, especialmente en el caso de lumpectomías, cuadrantectomías y mastectomías, el uso del formol tamponado al 10%, y el manejo de los tiempos adecuados para la fijación entre 6-72 horas.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Industrial de Santander y al Comité de la Maestría de Ciencias Básicas Biomédicas, personal del Laboratorio de Patología de la UIS, Laboratorio de Patología del Hospital Universitario La Samaritana de Bogotá, área de Estadística y Unidad Oncológica del Hospital Universitario de Santander, a las diferentes Instituciones de Salud de la ciudad, Laboratorio de Patología de la UNAB.

## CONSIDERACIONES ÉTICAS

Para la realización del presente estudio se obtuvo aprobación del comité de ética de la Universidad Industrial de Santander así como el consentimiento por parte de las pacientes involucradas. Desde el punto de vista bioético, el presente trabajo de investigación se fundamenta en los principios establecidos en la Declaración de Helsinki proclamada por la Asociación Médica Mundial<sup>24</sup> y en la Resolución 8430 de 1993 expedida por el Ministerio de Salud de Colombia<sup>25</sup>.

## CONFLICTO DE INTERESES

Declaramos no tener conflicto de intereses pertinentes que puedan influir en los resultados de este artículo.

## REFERENCIAS

1. Rakha EA, Reis-Filho JS, Baehner F, Dabbs DJ, Decker T, Eusebi V, Fox SB, Ichihara S, Jacquemier J, Lakhani SR, Palacios J, Richardson AL, Schnitt

SJ, Schmitt FC, Tan PH, Tse GM, Badve S, Ellis IO. Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast Cancer Res* 2010; 12: 1-12.

2. Globocan 2008: Cancer Incidence and Mortality worldwide. International Agency for Research on Cancer. World Health Organization. Media Centre-IARC News. <http://globocan.iarc.fr/>. Acceso el 28 de Abril de 2011.
3. Uribe CJ, Meza EL. Incidencia de Cáncer en el área metropolitana de Bucaramanga, 2000-2004. *Med UNAB* 2007; 10(3): 147-172.
4. Cheang MCU, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK, Perou CM, Nielsen TO. Basal-Like Breast Cancer Defined by Five Biomarkers Has Superior Prognostic Value than Triple-Negative Phenotype. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 1368-1376.
5. Anderson WF, Chu KC, Chatterjee N, Brawley O, Brinton LA. Tumor Variants by Hormone Receptor Expression in White Patients With Node-Negative Breast Cancer From the Surveillance, Epidemiology, and End Results Database. *J Clin Oncol* 2001; 19: 18-27.
6. Chu KC, Anderson WF, Fritz A, Ries LAG, Brawley OW. Frequency Distributions of Breast Cancer Characteristics Classified by Estrogen Receptor and Progesterone Receptor Status for Eight Racial/Ethnic Groups. *Cancer* 2001; 92: 37-45.
7. Gerson R, Alban F, Villalobos A, Serrano A. Recurrencia y supervivencia de cáncer mamario temprano con inmunofenotipo triple-negativo. *Gac Méd Méx* 2008; 144(1): 27-34.
8. Desmedt C, Haibe-Kains B, Wirapati P, et al. Biological processes associated with breast cancer clinical outcome depend on the molecular subtypes. *Clin Cancer Res* 2008; 14(16): 5158-5165.
9. Wolff AC, Hammond EH, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A, McShane LM, Paik S, Pegram MD, Perez EA, Press MF, Rhodes A, Sturgeon C, Taube SE, Tubbs R, Vance GH, Vijver M van de, Wheeler TM. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologist Guideline Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 118-145.
10. Hammond MEH, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerly KL, Badve S, Fitzgibbons PL, Francis G, Goldstein NS, Hayes M, Hicks DG, Lester S, Love R, Mangu PB, McShane L, Miller K, Osborne CK, Paik S, Perlmutter J, Rhodes A, Sasano H, Schwartz JN, Sweep FCG, Taube S,

- Torlakovic EE, Valenstein P, Viale G, Visscher D, Wheeler T, Williams RB, Wittliff JL, Wolff AC. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologist Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134: e48-e72.
11. Jaramillo R, Bravo LE, Carrascal E, Tamayo O. Expresión de receptores hormonales frente a indicadores pronósticos en carcinoma de mama. *Rev Colomb Med.* 2002; 33: 156-161.
  12. Lester S. *Patología estructural y funcional Robbins y Cotran. La mama.* Elsevier 2005. p.1123-1158.
  13. 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.
  14. Bhargava R, Beriwal S, Striebel JM, Dabbs DJ. Breast cancer molecular class ERBB2: preponderance of tumors with apocrine differentiation and expression of basal phenotype markers CK5, CK5/6, and EGFR. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2010; 18: 113-118.
  15. Foulkes WD. Current concepts Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med* 2010; 363: 1938-1948.
  16. Huang Z, Zhu W, Meng Y, Xia H. Development of new rabbit monoclonal antibody to progesterone receptors (clone SP2): No heat pretreatment but effective for paraffin section immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2006; 14: 229-233.
  17. Cano G, Milanezi F, Leitao D, Ricardo S, Brito MJ, Schmitt FC. Estimation of hormone receptor status in fine-needle aspirates and paraffin-embedded section from breast cancer using the novel rabbit monoclonal antibodies SP1 and SP2. *Diagn Cytopathol* 2003; 29(4): 207-211.
  18. Hanley KZ, Siddiqui MT, Lawson D, Cohen C, Nassar A. Evaluation of new monoclonal antibodies in detection of estrogen receptor, progesterone receptor and HER2 protein expression in breast carcinoma cell block section using conventional microscopy and quantitative image analysis. *Diagn Cytopathol* 2009; 37: 251-257.
  19. Wludarski SC, Bacchi CE. High concordance of SP3 rabbit monoclonal antibody with FISH to evaluate HER2 in breast carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2008; 16: 466-470.
  20. Nassar A, Cohen C, Siddiqui M. Estimation of hormone receptor status and HER2 in cytologic cell blocks from breast cancer using the novel rabbit monoclonal antibodies (SP1, SP2, SP3). *Diagn Cytopathol* 2009; 32: 865-870.
  21. Díaz-Pérez JA, Serrano PA, García E, Aranda P, Niño A. Característica clínicas y patológicas asociadas a los carcinomas de mama con perfil inmunofenotípico triple negativo en el Hospital Universitario de Santander, Colombia. *Bucaramanga. Rev Colomb Cir* 2008; 23(Sup): 38.
  22. Perou CM, Sorlie T, Elsen MB, Rijn M van de, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams c, Zhu SX, Lonning PE, Borresen-Dale AL, Brown PO, Botstein D. Molecular portraits of human breast tumors. *Nature* 2000; 406: 747-752.
  23. Owens MA, Horten BC, Da Silva MM. Her amplification ratios by fluorescence in situ hybridization and correlation whit immunohistochemistry in a cohort of 6556 breast cancer tissues. *Clin Breast Cancer* 2004; 5: 63-69.
  24. Asociación médica mundial. [Online] Junio 1964. Acceso el 1 de Marzo de 2011. Disponible en: <http://www.wma.net/s/policy/17-c s.html>.
  25. Republica de Colombia Ministerio de Salud. Resolución 008430 de 1993. Ministerio de Protección Social de Colombia. [Online] Octubre 4, 1993. Acceso el 30 de Julio de 2010. Disponible en: <http://www.minproteccionsocial.gov.co/Normatividad/RESOLUCION%208430%20DE%201993.pdf>.