

# DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO Y FACTORES PRONÓSTICO EN CÁNCER INFILTRANTE DE GLÁNDULA MAMARIA

Víctor Manuel Pérez Sánchez, Teresa Andrea Vela Chávez y Arcelia Mora Tiscareño

Departamento de Patología Post-Mortem y Tumores Mamarios. Instituto Nacional de Cancerología.

## RESUMEN •

**E**L CÁNCER DE LA GLÁNDULA MAMARIA es un padecimiento heterogéneo; la identificación continua de marcadores que apoyen en la predicción de la respuesta a la terapia y el pronóstico del padecimiento, es una tarea diaria. A la fecha se ha logrado establecer el poder pronóstico de solo unos cuantos marcadores. Los clásicos son el tamaño tumoral, el número de ganglios positivos y la permeación vascular linfática. El receptor de estrógeno, es probablemente el factor pronóstico con mayor poder predictivo en su manejo. El receptor de progesterona, también es un marcador ampliamente usado, aunque su valor pronóstico no está completamente establecido. Por su parte HER-2 se ha convertido en el factor de mal pronóstico evaluado en forma rutinaria. Otros factores no han demostrado un impacto semejante en el pronóstico de las pacientes con cáncer de mama.

## ABSTRACT •

*Breast cancer is a heterogeneous disease and there is a continual drive to identify markers that will aid in predicting prognosis and response to therapy. To date, few markers have established prognostic power. The classical prognostic factors are size tumor, status nodal and vascular-lymphatic permeation. Estrogen receptor is probably the most powerful predictive marker in breast cancer management, both in determining prognosis and in predicting response to hormone therapies. Progesterone receptor is also widely used marker, although its value is less well established. HER-2 status has also become a routine prognostic and predictive factor in breast cancer. Other factors have not demonstrated impact prognostic and predictive in patients with breast cancer.*



Correspondencia:

**Dr. Víctor Manuel Pérez Sánchez**

Departamento de Patología Post-Mortem y Tumores Mamarios Instituto Nacional de Cancerología  
San Fernando 22, Col. Sección XVI. Tlalpan, México DF, CP 14080  
Tel. 56 28 04 00 ext: 158 · e-Mail: pesv2003@yahoo.com.mx

**E**N LA ACTUALIDAD EL PATÓLOGO ha pasado del terreno morfológico-descriptivo, hacia un espacio en la toma de decisiones en el tratamiento del cáncer de glándula mamaria, debido a que tiene un papel importante en la determinación de factores pronósticos y predictivos. Los factores pronósticos son cualquier característica del tumor o del paciente que puede usarse para predecir la historia natural de la neoplasia y por ende del periodo libre de enfermedad, recidiva y sobrevida de las pacientes. Los factores predictivos indican la respuesta a una terapia en especial (1).

En el manuscrito del consenso de 1999 del Colegio Americano de Patólogos (2) los factores pronósticos los clasificaron en tres categorías, la categoría I incluye aquellos factores que proveen información en el manejo del paciente y que deben ser usados de manera rutinaria, la categoría II son factores biológicos y clínicos que han sido estudiados, pero que todavía se necesita información estadística más sólida para ser validados y pueden ser opcionales, la categoría III son todos aquellos factores que no han sido totalmente estudiados (Cuadro 1). Actualmente es de considerar que el oncogen Her2/neu\* con el nivel de evidencia acumulada como factor predictivo debe considerarse dentro de la categoría I.

A continuación se hace un análisis de factores pronósticos y predictivos más frecuentemente utilizados en la práctica diaria en nuestro medio.

**CUADRO 1 •**

Factores pronósticos en cáncer de glándula mamaria. Consenso del Colegio Americano de Patólogos en el año 1999.

CATEGORÍA 1	CATEGORÍA 2	CATEGORÍA 3
Tamaño del Tumor	HER-2-neu	Análisis de Ploidía de DNA
Estatus Ganglionar	p53	Angiogénesis EGF
Grado Histológico	Permeación Vascular o Linfática	TGF $\alpha$
Tipo Histológico	Marcadores de Proliferación Celular (Ki-67, MIB-1)	bcl-2
Expresión de RH	Análisis de DNA (Fracción de Fase)	pS2
		Catepsina D

**TAMAÑO DEL TUMOR.** Este es un factor pronóstico importante ya que tiene una asociación directa con la sobrevida y el estado ganglionar en la paciente (3). El carcinoma mínimo de glándula mamaria se ha definido como aquel carcinoma ductal in situ, lobulillar in situ o carcinoma invasor que mide menos de 0.5 cm de diámetro (4). Se ha reportado que el 28% de estos carcinomas tienen metástasis ganglionares (5), aunque algunos autores las reportan en sólo 3 a 5%, se ha observado que cuando el tamaño del tumor aumentaba de 0.6 ha 1 cm también aumenta su incidencia hasta el 16 % (6,7).

Rosen y cols. encontraron sobrevida libre de enfermedad de 91% a los 10 años y 87 % a los 20 años para pacientes con carcinoma ductal o lobulillar infiltrante con tamaño del tumor  $\leq 1$  cm, por otro lado aquellos pacientes con tumores mayores tuvieron un periodo de sobrevida libre de enfermedad de 73% y 68% a los 10 y 20 años respectivamente (8). Es importante reportar el tamaño del tumor de la forma más exacta posible por lo que se pueden seguir las siguientes recomendaciones (2):

- a. El tumor se debe medir cuando menos en dos dimensiones y el diámetro mayor es el que se toma como referencia para la estadificación.
- b. El tamaño macroscópico y microscópico deben correlacionarse. En tumores con amplio componente in situ, sólo se tomará como tamaño del componente invasor, el cual se debe medir durante el examen microscópico.
- c. Cuando se encuentran dos o más tumores, estos se deben reportar por separado.

**ESTADO GANGLIONAR.** En el presente el mejor indicador pronóstico en pacientes con cáncer temprano de glándula mamaria es la presencia o ausencia de metástasis en los ganglios linfáticos axilares. El 20 a 30% de las pacientes con ganglios negativos presentan recurrencia dentro de los primeros 10 años, mientras que recurren el 70% de los pacientes con ganglios axilares positivos. El número de ganglios afectados también es

importante, aquellas pacientes con 4 o más ganglios afectados tienen un peor pronóstico (2).

El método de aclaramiento con técnicas especiales aumenta el número de ganglios detectados en un 30 a 40 %, sin embargo, no se ha observado cambio al momento de estadificar con los métodos habituales de disección de ganglios (9). Actualmente se considera que una disección de axila es adecuada cuando incluye 15 a 20 ganglios. El reporte de patología incluye la cantidad total de ganglios, especificando el número afectado por metástasis, el estado de su cápsula y la presencia de neoplasia en el tejido adiposo periférico. También se menciona la presencia de conglomerados metastáticos. La micrometástasis es  $\leq 2$  mm de diámetro en el ganglio linfático. En 9 a 13 % de las pacientes con ganglios negativos se pueden encontrar pequeños focos microscópicos metastáticos en múltiples rebajes teñidos con hematoxilina-eosina y el porcentaje aumenta hasta en un 15 a 20% cuando se utiliza inmunohistoquímica para detectar células neoplásicas metastáticas en los ganglios (10,11). El significado de las micrometástasis por inmunohistoquímica aun no ha sido definido.

Actualmente como procedimiento conservador se esta utilizando la técnica de ganglio centinela para pacientes con estadio I-II de cáncer de mama.

**GRADO HISTOLÓGICO.** Este es un factor pronóstico importante ya que ha mostrado tener valor para predecir la sobrevida en pacientes con cáncer de glándula mamaria. El método de gradificación histológica que se utiliza actualmente, es el sistema de Scarff-Bloom-Richardson modificado (12) que consta de los siguientes parámetros:

**a.** Formación de túbulos. Cuando el 75% o más del tumor presenta túbulos se le asigna un punto, entre el 10 a 75% del tumor con formación de túbulos se le asignan dos puntos y el tumor con menos del 10% se le asignan tres puntos.

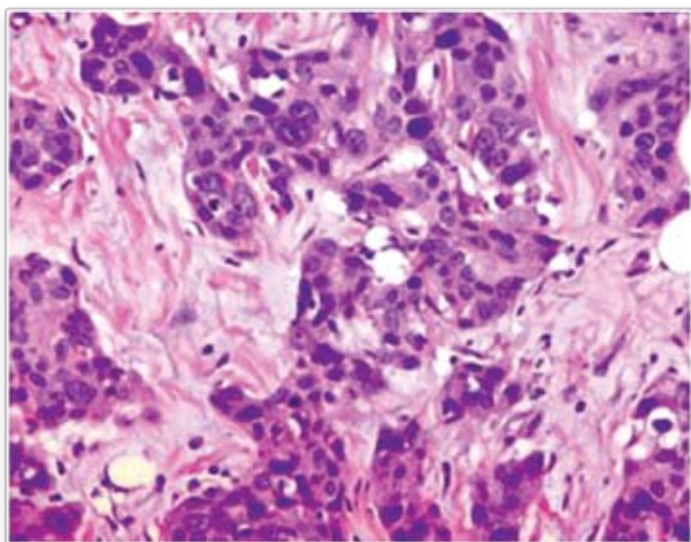
**b.** Grado nuclear. Cuando el núcleo de las células neoplásicas es relativamente pequeño, uniforme en tamaño y patrón de cromatina con escasa va-

riación con respecto a un núcleo normal se le asigna un punto (grado nuclear 1). El núcleo mayor que uno normal, con cromatina en grumos, nucléolo aparente, variaciones importantes en tamaño y patrón de cromatina se le asignan dos puntos (grado nuclear 2). El núcleo con marcada variación en forma, tamaño y patrón de la cromatina con dos o más nucléolos aparentes se le asignan tres puntos (grado nuclear 3).

**c.** Número de mitosis. Sólo se cuentan las figuras mitóticas en metafase, telofase, anafase y no células hipercrómicas o apoptóticas, siempre tomando las áreas más celulares y de mayor actividad mitótica. Los puntos son asignados de acuerdo al área del campo de gran aumento utilizado para cada microscopio y siempre contando el número de mitosis por 10 campos de gran aumento. Por ejemplo para el área de 0.274 mm cuadrados se asigna un punto para 0 a 9 mitosis por 10 campos de gran aumento, dos puntos para 10 a 19 mitosis y tres puntos para 20 o más mitosis por 10 campos de gran aumento. El área del campo de gran aumento se debe determinar para cada microscopio.

En base a lo anterior la calificación menor es de tres y la mayor de nueve. Los tumores con calificación de 3 hasta 5 son bien diferenciados (grado 1), aquellos con calificación de 6 y 7 son moderadamente diferenciados (grado 2) y los que obtienen calificación 8 y 9 son poco diferenciados (grado 3). El alto grado histológico se ha relacionado con mayor frecuencia a metástasis, recurrencias tumorales, muerte por enfermedad metastásica, menor intervalo libre de enfermedad y sobrevida global más corta (13,14). En la *figura 1* se muestra fotografía microscópica de carcinoma canalicular infiltrante sin patrón específico.

**PERMEACIÓN LINFÁTICA.** Los émbolos tumorales dentro de los vasos linfáticos predicen recurrencia local y sobrevida global más corta. Los émbolos tumorales linfáticos se encuentran en 10 a 15% de las pacientes con ganglios negativos, algunos estudios han demostrado pronóstico desfavorable en estas pacientes, especial-



**FIGURA 1 •**

*Carcinoma canalicular infiltrante sin patrón específico (x100 hematoxilina-eósina).*

mente en aquellas clasificadas como T1N0M0 (15,16). Los espacios linfáticos deben distinguirse de los espacios vacíos que se observan alrededor de las células neoplásicas y que son artificios de contracción del tejido fibroconectivo. Los émbolos tumorales deben observarse dentro o adosados a canales vasculares delineados por una sola capa de células endoteliales y sin presencia de músculo liso o elástica.

**INVASIÓN VASCULAR.** Es la penetración de células neoplásicas en la luz de un vaso arterial o venoso. Estas estructuras vasculares se pueden distinguir por la presencia de una pared de músculo liso con soporte de fibras elásticas, en algunas ocasiones se deben utilizar tinciones de histoquímica para fibras elásticas, ya que es importante definir la presencia de una verdadera permeación vascular. Las metástasis viscerales de cáncer de mama se han observado en 67% de los pacientes con invasión en comparación con solo el 35 % de los pacientes sin ella. Así también las recurrencias son más frecuentes en pacientes con invasión vascular (16).

**INFILTRADO LINFOPLASMOCITARIO.** La presencia de este infiltrado en la periferia del tumor es interesante y controversial. El carcinoma

medular, el cual es de buen pronóstico, se caracteriza por prominente infiltrado linfoplasmocitario, sin embargo, este hallazgo en carcinomas ductales sin patrón específico, se ha relacionado a mal pronóstico (17). La caracterización de linfocitos ha mostrado células CD4 y CD8 con predominio de las últimas (18,19).

**CARACTERÍSTICAS DEL ESTROMA.** Se han observado ciertas características del tumor que se relacionan con el estroma. Los tumores que contienen mínima reacción estromal son bien circunscritos, grado nuclear e histológico alto, reacción linfoplasmocitaria prominente, son receptores de estrógeno negativos. Por otro lado, los carcinomas con estroma fibrótico, escleróticos, con aspecto estelar son moderadamente diferenciados con escasa reacción linfoplasmocitaria y son receptores de estrógeno positivos (20, 21,22).

**RECEPTORES HORMONALES.** La expresión de receptores de estrógeno (RE) y progesterona (RP) positivos se correlaciona con tumores de bajo grado histológico que responden a tratamiento hormonal sobretodo en pacientes post-menopausicas. Solamente hay una diferencia absoluta del 8 a 10% en sobrevida libre de enfermedad para mujeres con tumores de mama receptores positivos en comparación con aquellas con receptores negativos (23). Sin embargo, son factores altamente predictivos de respuesta a terapia hormonal, aproximadamente 77% de las pacientes con tumores RE y RP positivos responden a terapia hormonal, 27% responden cuando son RE positivos y RP negativos, 46% responden cuando son RE negativos y RP positivos. El 11% de las pacientes no responden cuando ambos receptores son positivos, y aproximadamente el 33% de las pacientes con receptores positivos no responden a terapia hormonal (24,25).

La determinación de RE y RP en el tumor de pacientes con cáncer de glándula mamaria se realiza de manera rutinaria. En la década de los ochenta se determinaban por el método bioquímico de

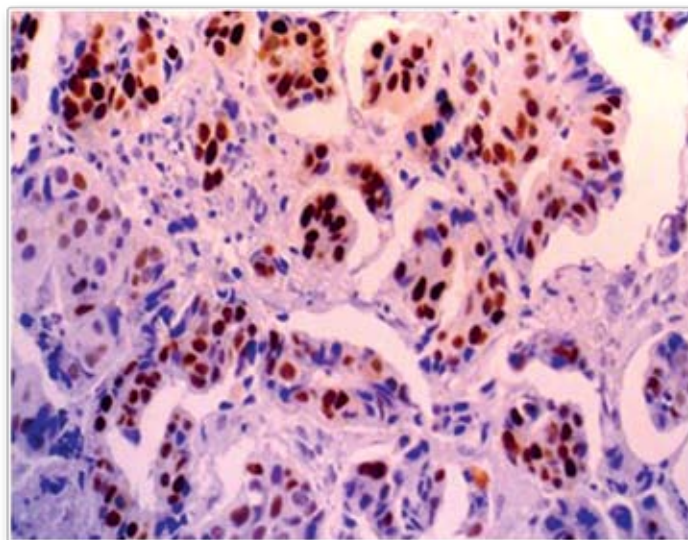
carbón-dextrán y en los noventa se empezaron a determinar por inmunohistoquímica en tejidos fijados en formaldehído e incluidos en parafina, observando una buena correlación e incluso en algunos aspectos superando el primer método (26). Los receptores hormonales se deben determinar en cortes del tumor y metástasis que estén bien preservados e incluso se pueden realizar en biopsia trucut, siempre y cuando se tenga suficiente material. En la medida que sea posible debe contarse con un control interno positivo de tejido normal y si no es así se recomienda siempre correr al mismo tiempo controles positivos ya conocidos. La reacción positiva a RE y RP se observa en el núcleo de las células (*Figura 2*).

En cuanto al reporte, algunos autores prefieren utilizar sólo los términos de positivo y negativo. Wilbur (27) y Kinsel (28), recomiendan un método semi-cuantitativo de reporte conocido como "HSCORE". Este método es sencillo, se realiza con microscopio de luz convencional, se basa en el porcentaje de núcleos positivos y la intensidad de la tinción, la fórmula es la siguiente:

**HSCORE = 3 (% de núcleos teñidos intensamente) + 2 (% de núcleos moderadamente teñidos) + 1 (% de núcleos débilmente teñidos)**

El resultado va desde 0 hasta 300, este método ha mostrado correlación con los resultados cuantitativos del método bioquímico. En su estudio Wilbur y cols. consideran a RE positivo cuando es igual o superior a 20 y RP cuando es igual o mayor a 5. En la *figura 2* se muestra una fotografía de carcinoma canalicular infiltrante positivo a receptores de progesterona por inmunohistoquímica. Existen otros métodos para cuantificar receptores hormonales como el score de Allred (29). Se puede utilizar cualquier método, lo más importante es mencionar en el reporte el punto de corte para considerar positivo o negativo los receptores hormonales.

HER2/neu (c-erbB-2). HER2 es miembro de la familia de receptores del factor de crecimiento



**FIGURA 2•**

*Carcinoma canalicular infiltrante positivo a receptores hormonales de progesterona (x100 inmunohistoquímica).*

epidérmico constituido por cuatro miembros: HER 1 (erb-B1), HER-2 (erb-B2), HER-3 (erb-B3) y HER-4 (erb-B4). El proto-oncogén HER-2/neu está localizado en el cromosoma 17q y codifica para una glicoproteína transmembranal de 185 KDa, que posee actividad tirosina cinasa intrínseca. La amplificación de HER-2/neu o sobre expresión de la proteína, se ha identificado en 10 a 34 % de los carcinomas de glándula mamaria. Las técnicas usadas para detectar anomalías en la amplificación del gen HER-2/neu o en la sobre expresión de su proteína incluyen inmunohistoquímica, "Fluorescence In-Situ Hybridization" (FISH), "Chromogenic In-Situ Hybridization" (CISH), Real time-PCR y el ensayo de ELISA (30-31).

La inmunohistoquímica (IHC) y el FISH son los métodos más comúnmente empleados para determinar el estatus del HER2/neu. La IHC en tejido fijado con formol y embebido en parafina, así como en tejido congelado son métodos cualitativos y cuantitativos que se utilizan actualmente (30-33). En el ensayo de FISH se determina el número de copias del gen HER2 y consecuentemente el nivel de amplificación del gen HER2, aunque generalmente se usa para confirmar los resultados previamente obtenidos por IHC, también se emplea como prueba de diagnóstico ini-

### CUADRO 2•

Métodos empelados en la determinación de HER2/neu.

Inmunohistoquímica	FISH	CISH
<b>BAJO COSTO</b> <i>Microscopía Luz</i> (Evaluación morfológica) Señal estable Sencillo; variación por manejo de tejido Cuali y semi-cuantitativo	<b>ALTO COSTO</b> <i>Microscopía Fluorescencia</i> (No evaluación morfológica) Señal decae con el tiempo Laborioso, DNA muy estable; personal especializado Cuantitativo Alta sensibilidad y especificidad Entrenamiento - Interpretación	<b>COSTO MEDIO</b> <i>Microscopía Luz</i> (Evaluación morfológica) Señal estable Multi-paso variación por procesamiento Cuantitativo

### CUADRO 3•

Guía para el reporte de interpretación de Her2/neu

Puntuaje para Reporte	Valoración de la sobre-expresión de HER2	Patrón de Tinción
0	Negativo	No se observa tinción o la tinción en la membrana es en menos del 30% de las células del tumor.
1	Negativo	Tinción leve apenas perceptible en más del 30% de células. Solo se tiñe parte de la membrana celular.
2	Positivo	Tinción leve a moderada de la membrana completa en más del 30% de las células del tumor.
3	Positivo	Tinción intensa en la membrana completa en más del 30% de las células del tumor.

cial. En general se observan altas concordancias entre los resultados obtenidos por IHC y FISH, sin embargo, cada método proporciona información a diferente, nivel y cada uno posee ventajas y desventajas (33, 34);(Cuadro 2).

Cabe mencionar, que aun se requiere un mayor número de estudios antes de que el CISH y el PCR de tiempo real puedan ser introducidos en el diagnóstico de rutina de las pacientes con cáncer infiltrante de la glándula mamaria. Por otro lado, el ensayo de ELISA que ha sido aprobado por la FDA para la determinación de HER2 en la circulación de pacientes con cáncer de glándula mamaria, también requiere mayor estudio para determinar su utilidad real en la identificación de pacientes que puedan verse beneficiados por la terapia con Herceptin® (35-36)

La relación de la expresión de HER-2 con pronóstico en pacientes con cáncer de mama que

presentan ganglios axilares negativos se ha estudiado de manera extensa y en la mayoría de estudios no hay asociación con recurrencia y sobrevida. Actualmente se considera que HER-2 no es significativo como factor pronóstico en pacientes con ganglios negativos (37).

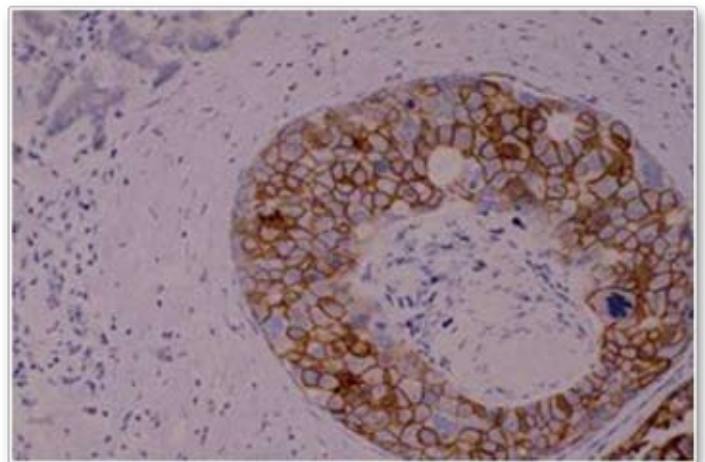
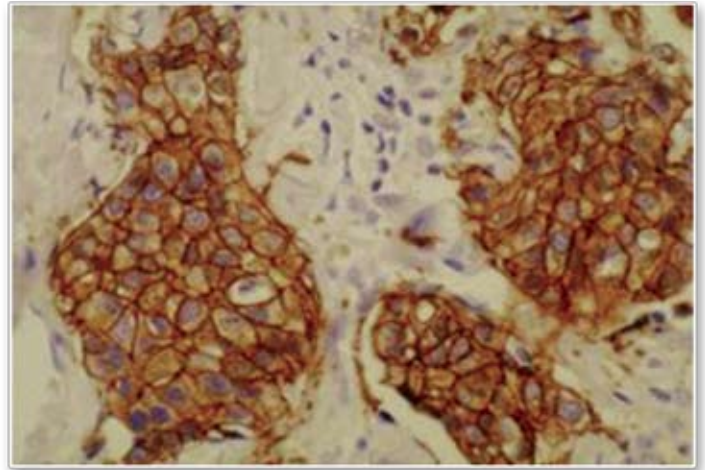
Aunque en un principio la relación de HER-2 con el pronóstico de pacientes con ganglios positivos no había presentado resultados consistentes. Zhou y cols. (38) no encontraron asociación entre la expresión de HER-2 y el pronóstico en pacientes estadio II. Tsuda y cols. (39) reportaron una disminución de la sobrevida libre de enfermedad en pacientes con ganglios negativos cuyo tumor sobre-expresó HER-2, varios estudios han corroborado que el estatus HER-2 positivo en pacientes con cáncer de glándula mamaria predice un mal pronóstico para los pacientes (40, 41). En un estudio de IHC (42), se concluye que la expresión positiva a HER-2 se relaciona con pronóstico menos favorable en pacientes con ganglios positivos. La sobre-expresión de HER-2 se observa en carcinomas de mama poco diferenciados con alto grado histológico, algunos de ellos se asocian a carcinomas ductales in situ de tipo comedocarcinoma y habitualmente son negativos a receptores hormonales (43, 44).

La sobre expresión de HER-2 puede ser predictiva de resistencia a terapia hormonal (45); y es predictiva de resistencia a la quimioterapia con CFM; por otro lado, los pacientes con tumores que sobre expresan HER-2 se benefician mejor con un tratamiento que incluya antraciclinas que aquellos que no sobre expresan HER-2 (1).

Las pruebas de un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra la proteína de superficie HER2-neu trastuzumab (Herceptin) aplicado a pacientes con cáncer de mama, aunque de manera temprana, ha dado buenos resultados. Las pacientes que se benefician con el tratamiento, lógicamente son aquellas cuyos tumores sobre-expresan el HER-2, con el fin de elegir a estas pacientes se ha desarrollado un sistema sencillo de cuantificación

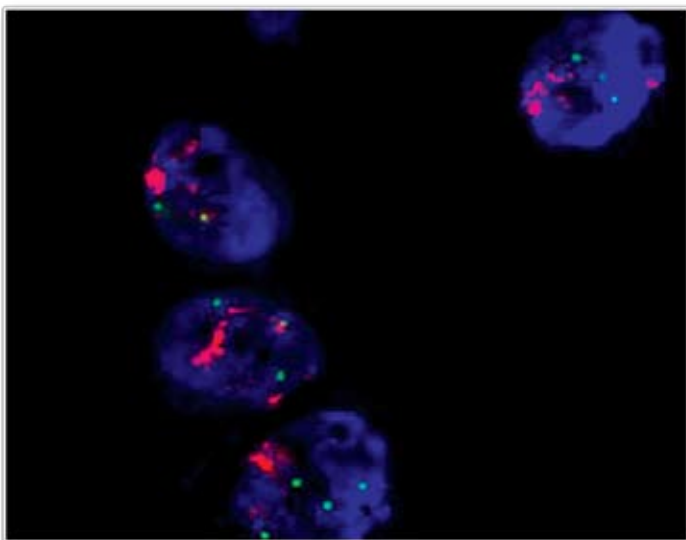
por IHC de la sobre expresión de HER-2 (45). En el cuadro 3 se muestra la guía modificada según la ASCO (46) para la interpretación de Herceptest en las células neoplásicas. Las pacientes que se benefician con Herceptin son aquellas que presentan un patrón de tinción que se corresponde con sobre-expresión de positivo 3. El beneficio para las pacientes positivo 2 es discutible, por lo que de manera ideal es bueno enviarlas a determinación de HER-2 por FISH. Las pacientes en las que se corrobora sobre-expresión de HER-2 por este método se podrían beneficiar con Herceptin. La figura 3 muestra un carcinoma con sobre expresión de HER-2 (Positivo 3 con el método de Herceptest). La figura 4 muestra un caso de carcinoma canalicular infiltrante con amplificación de Her2neu con la sonda de pathvision. La figura 5 muestra un caso de carcinoma canalicular infiltrante con amplificación de her2neu medido con el método de CISH.

**PROTEINA p-53.** p53 Es un gen supresor del cáncer situado en el cromosoma 17 p13.1; es el sitio más frecuente de las alteraciones genéticas del cáncer humano. El 50% o más de los tumores humanos contienen mutaciones de este gen. La pérdida homocigótica del gen p-53 aparece en casi todos los tipos de cáncer, entre ellos el



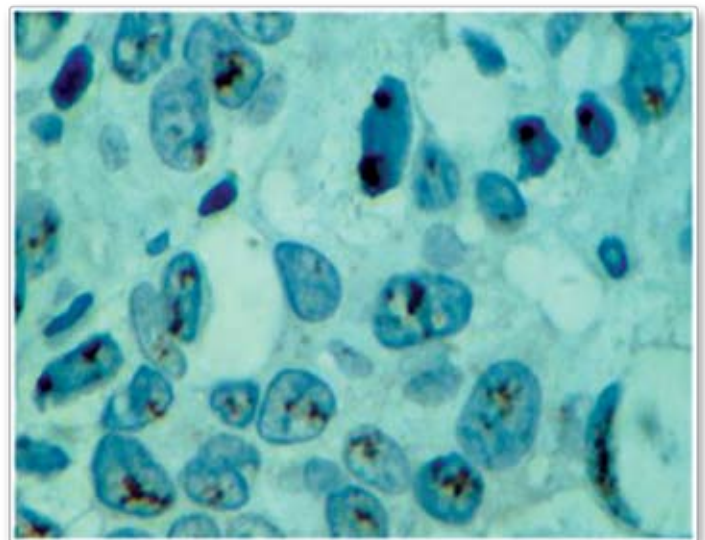
**FIGURA 3•**

*Carcinoma canalicular infiltrante positivo 3 con el método de HERCEPTEST (x 100 inmunohistoquímica).*



**FIGURA 4•**

*Carcinoma canalicular infiltrante con amplificación para HER2neu con el método de FISH (Pathvision) x100.*

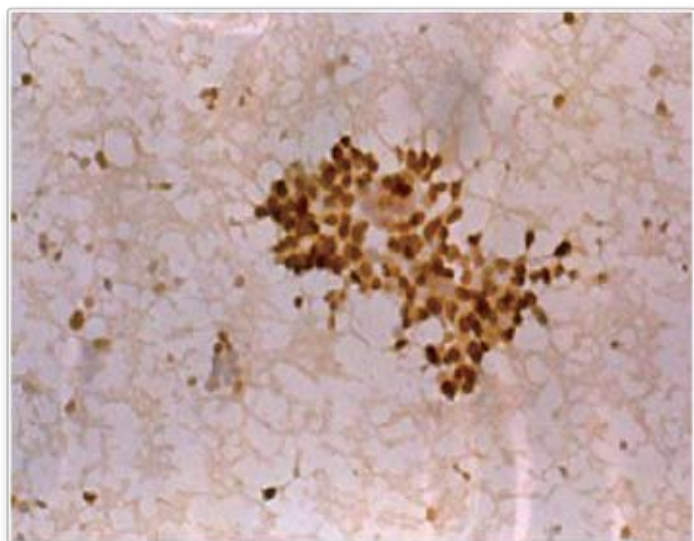


**FIGURA 5•**

*Carcinoma canalicular infiltrante con amplificación para HER2neu con el método de CISH (x400).*

cáncer de mama, pulmón y colon. El hecho de que las mutaciones de p-53 sean frecuentes en distintos tumores, indica que la proteína p-53 actúa como guardián esencial contra el desarrollo del cáncer. p-53 mediante mecanismos desconocidos, advierte que el DNA se encuentra dañado y ayuda a su reparación, provocando un arresto en G1 e induciendo a los genes que intervienen en la reparación del DNA. Si resulta imposible la reparación, p-53 conduce a la célula hacia la apoptosis. En caso de pérdida homocigótica de p-53, el DNA dañado no puede ser reparado, las mutaciones se convierten en fijas cuando la célula se divide y las células entran en un camino sin retorno hacia la transformación maligna. En condiciones normales p-53 presenta una vida media de 20 minutos, las mutaciones resultan en una sobre-expresión de p-53 (p-53 mutante), que se puede detectar por IHC a nivel nuclear (47).

Thor y cols. (48) usaron el anticuerpo Pab1801 para determinar la sobre-expresión de p-53, en tejidos fijados en formol e incluidos en parafina, en 127 pacientes con cáncer de mama con ganglios negativos y 126 pacientes con ganglios positivos y encontraron que la sobre-expresión de p-53 mutante se relacionó con una sobrevida libre de metástasis más corta que en aquellas pacientes que no la mostraban. La re-



**FIGURA 6 •**

*Carcinoma canalicular Infiltrante positivo a p53 con inmunohistoquímica (100x).*

ducción de la sobrevida global se ha observado más fehaciente en pacientes con ganglios positivos. Isola y cols. (49) observaron una alta correlación entre la sobre-expresión de p53 y fase-S alta del ciclo celular. La sobre-expresión de p-53 medida por IHC en cortes fijados en parafina puede ser un factor pronóstico independiente para sobrevida libre de enfermedad y sobrevida global en los pacientes de cáncer de mama con ganglios negativos y positivos. También se observa una alta relación entre la sobre-expresión de p-53 mutante y alta actividad proliferativa; y la sobre-expresión de p-53 como predictor de resistencia a quimioterapia y radioterapia, sin embargo, dichos hallazgos son contradictorios (1,2).

En el síndrome de Li-Fraumeni se observan mutaciones espontáneas de p53, además se observa una alta incidencia de cáncer de glándula mamaria (50). Estudios recientes sugieren una relación entre BRCA-1 y p-53 en cáncer de mama hereditario, al parecer p-53 actúa como un cofactor del cáncer en estas pacientes (51-55). En la figura 6 se observa un caso de carcinoma canalicular infiltrante positivo a p53 con IHC.

bcl - 2. Este gen se ha reportado como un marcador de buen pronóstico y un factor predictivo de respuesta al tratamiento con tamoxifen. La expresión de bcl-2 se asocia a tumores con RE positivo y las pacientes tienen sobrevida libre de enfermedad más larga (54). Hellemans y cols. no reportaron un pronóstico significativo para la expresión de bcl-2 en pacientes con ganglios negativos, sin embargo, la negatividad de bcl-2 en pacientes con ganglios positivos se relacionó con sobrevida global más corta (55).

**CITOMETRÍA DE FLUJO.** Actualmente por diversos estudios sólo se ha logrado validar como factor pronóstico en cáncer de mama la medida de la fracción de fase S del ciclo celular. La fase S se relaciona con el grado nuclear (56). En uno de estos estudios (57) la medida de la fracción de fase S, pero no la ploidía, fue capaz de predecir la recurrencia en pacientes no tratados con terapia adyuvante. El estudio de NSABP (B -04) inclu-

yó pacientes con ganglios clínicamente positivos y negativos con seguimiento de 10 años. La medida de la fracción de fase-S mostró una supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global más larga en pacientes con fase-S baja. Esta relación fue especialmente alta en pacientes con ganglios negativos. El estatus de la ploidía no mostró ninguna relación. En análisis multivariado, en el mismo estudio, solamente la fase S y el tamaño del tumor fueron variables independientes para predecir supervivencia libre de enfermedad (58). En conclusión en los estudios publicados se ha observado una asociación entre fase S alta y un incremento en el riesgo de recurrencia y mortalidad para pacientes con cáncer de mama con ganglios positivos y negativos. La fracción de fase S alta se asocia con grado nuclear alto en las células tumorales.

La fracción de fase S también se ha relacionado con la respuesta al tratamiento con quimioterapia, sin embargo, dichos hallazgos son controversiales en diversos estudios (59). La fracción de fase S alta se relaciona con receptores hormonales tumorales negativos y fracción de fase S baja se relaciona con receptores hormonales positivos (60). El valor de la ploidía y el índice de DNA aun son controvertidos (61).

**Ki-67 / MIB1.** Ki-67 es una proteína nuclear que sólo se expresa en las células que se encuentran proliferando. Esta proteína puede detectarse mediante un anticuerpo monoclonal también llamado Ki-67 o MK167. La tinción más intensa para Ki-67 se encuentra en la fase G2/M (62). MIB 1 es un anticuerpo murino monoclonal preparado contra epítopes del antígeno Ki-67 recombinante. En contraste al anticuerpo Ki-67 convencional, MIB 1 puede reconocer el antígeno en tejidos fijados en formol e incluidos en parafina (63).

Los altos porcentajes de MIB 1 se han relacionado con tumores poco diferenciados, tumores de gran tamaño, recurrencia temprana y pobre supervivencia (64). En nuestra experiencia la mejor manera de interpretar los resultados en análisis visual, es expresar el porcentaje de los núcleos positivos con

respecto a la totalidad del tumor. En la figura se muestra carcinoma canalicular infiltrante con componente in situ de tipo comedocarcinoma con alto porcentaje de núcleos positivos a Ki-67 (MIB1).

**ANGIOGÉNESIS.** El aumento de volumen de un tumor y su capacidad para dar metástasis requiere de la formación de nuevos vasos sanguíneos. En un estudio de 49 pacientes (26 con metástasis regionales o a distancia y 23 sin metástasis) se contó el número y densidad de los microvasos utilizando el anticuerpo Factor VIII. La cuenta y densidad de microvasos mostró una alta correlación directa con el riesgo de metástasis. Por cada 10% de incremento en la cuenta de microvasos, se observó 1.59 de incremento en el riesgo de metástasis. Por otro lado el incremento en la densidad de microvasos también aumentó el riesgo de metástasis (65)

Gasparini y cols. (65) estudiaron la angiogénesis y densidad de microvasos en los tumores de 161 pacientes con estadio temprano de cáncer de glándula mamaria. En análisis univariado y multivariado se observó una correlación alta entre la cuenta y densidad de microvasos con el porcentaje de metástasis, supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad en pacientes con ganglios positivos y negativos. Para el conteo de microvasos se recomiendan los siguientes pasos:

- 1) Seleccionar un buen corte representativo del tumor.
- 2) Realizar cortes de 5 micras para IHC.
- 3) Elegir el anticuerpo, generalmente CD 34.
- 4) Observar el tumor a bajo aumento y seleccionar el campo con mayor neovascularización y realizar en esa zona el conteo.
- 5) El conteo puede realizarse en un campo de 400 X y reportar el número de vasos existentes en ese campo.

En esta revisión hemos analizado y sintetizado los factores pronósticos y predictivos principales que pueden ser de ayuda para el médico clínico y patólogo en la toma de decisiones en el diagnóstico y tratamiento de las pacientes con patología de glándula mamaria.

## REFERENCIAS •

1. Hamilton A, Piccart M. The contribution of molecular markers to the prediction of response in the treatment of breast cancer: A review of the literature on Her-2, p-53 and bcl2. *Ann Oncol* 2000; 11: 647-63 •
2. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D y cols. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists. Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 124: 966-78 •
3. Stenquist B, Bentsson E, Dahlquist B y cols. Predicting breast cancer recurrence. *Cancer* 1982; 50: 2884-2893 •
4. Hartman WH. Minimal Breast Cancer . An up date. *Cancer* 53: 681-84, 1984 •
5. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, Lymph node status and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 63 : 181 – 87, 1989 •
6. Schwartz GF, Finkel GC, Garcia JG et al. Subclinical ductal carcinoma in situ of the breast. Treatment by local excision and surveillance alone. *Cancer* 1992; 70:2468-2474 •
7. Silverstein MJ, Gierson ED, Waisman JR y cols. Axillary lymph node dissection for T1a breast carcinoma. *Cancer* 1994; 73: 664-667 •
8. Rosen PP, Groshen S, Kinne DW y cols. Factors influencing prognosis in node negative breast carcinoma. Analysis of 767 T1N0M0/T2N0M0 patients with long-term follow up. *J Clin Oncol* 1993; 11: 2090-2100 •
9. Morrow M, Foster RS. Staging of breast cancer a new nationale for internal mammary node biopsy. *Arch Surg* 1981; 116: 748 •
10. International (Ludwing) breast cancer study group prognostic impotance of occult axillary lymph node micrometastasis from breast cancers. *Lancet* 1990; 335: 1565-1568 •
11. Noguchi S, Aihdra T, Nakamori S y cols. The detection of breast carcinoma micrometastasis in axillary lymph nodes by means of reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Cancer* 1994; 74: 1575-1600 •
12. Simpson JF, Page DL. Status of breast cancer prognostication based on histopathologic data. *Am J Clin Pathol* 1994; 102 (suppl 1): S3-S8 •
13. Hopton DS, Thorogood J, Clayden AD y cols. Histological grading of breast cancer: significance of grade on recurrence and mortality. *Eur J Surg Oncol* 1989; 15: 25-31 •
14. Thoressen S. Histological grading and clinical stage at presentation in breast carcinoma. *Br J Cancer* 1982; 46: 457-458 •
15. Rosen PP. Tumor emboli in intramammary lymphatics in breast carcinoma: Pathologic criteria for diagnosis and clinical significance. *Pathol Annu* 1983; 18(pt2): 215-232 •
16. Roses Df, Bell DA, Flotte TJ y cols. Pathologic predictors of recurrence in stage 1 (T1N0M0)breast cancer. *Am J Cliin Pathol* 1982; 78: 817-820 •
17. Rosen PP, Lesser ML, Kinne D y cols. Breast carcinoma in women 35 years or younger. *Ann Surg* 1984; 199: 133-142 •
18. Horny HP, Horst HA. Lymphoreticular infiltrates in invasive ductal breast cancer. A histological and immunohistological study. *Virchows Arch (A)* 1986; 409: 275-286 •
19. Whiteside TL, Miescher S, Hurlimann J y cols. Clonal analysis and in situ characterization of lymphocytes infiltrating human breast carcinoma. *Cancer Immunol Immunother* 1986; 23: 169-173 •
20. Humeniuk V, Forrest APM, Hawkins RA y cols. Elastosis and primary breast cancer. *Cancer* 1982; 52: 1448-1452 •
21. Rasmussen BB, Pedersen BV, Thorpe SM y cols. *Cancer Res* 1985; 45: 1428-1430 •
22. Masters JRW, Sangster K, Hawkins RA y cols. Elastosis and estrogen receptors in human breast cancer. *Br J Cancer* 1976; 33: 342-343 •
23. Mc Guirre WL, Clark GM. Prognostic factors and treatment decisions in axillary node negative breast cancer. *N Engl J Med* 1992; 326: 1756-1761 •
24. Mohammed RH, Lakatua AJ, Haus E y cols. Estrogen and progesterone receptors in human breast cancer: correlation with histologic subtype and degree of differentiation. *Cancer* 1986; 58: 1076-1081 •
25. Butler JA; Bretsky S, Mendex BC y cols. Estrogen receptor protein of breast cancer and predictor of recurrence. *Cancer* 1985; 55: 1178-1181 •
26. De Mascarel, Soubeyran I, Mac Grogan G y cols. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in 938 breast carcinomas concordance with biochemical assay and prognostic significance. *Appl Immunohistochem* 1995; 3: 222-231 •
27. Wilbor DC, Willis J, Mooney RA y cols. Estrogen and progesterone receptor detection in archival formalin-fixed paraffin-embedded tissue from breast carcinomas: A comparison of immunohistochemical with the dextran coated charcol assay. *Mod Pathol* 1982; 5: 79-84 •
28. Kinsel LB, Szabo E, Greene GL y cols. Immunohistochemical análisis of estrogen receptors as a predictor of prognosis in breast cancer patients: comparison with quantitative biochemical methods. *Cancer Res* 1989; 49: 1052-1056 •
29. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, Clark GM: Prognosis and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol* 1998; 11: 155-168 •
30. Ross JS, Fletcher JA. HER-2/neu (c-erb-B2) gene and protein in breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1999; 112(suppl): S53-S67 •
31. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG y cols. Correlation of c-erb-B2 gene amplification and protein expression in human breast carcinoma with nodal status and nuclear grading. *Cancer Res* 1988; 48: 1238-1243 •
32. Sjogren S, Inganas M, Lindgren A y cols. Prognostic and predictive value of c-erb-B2 overexpression in primary breast cancer alone and in combination with other prognostic markers. *J Clin Oncol* 1988; 16: 462-469 •
33. Tsuda H, HER-2(c-erbB-2) Test Update: Present status and problems. *Breast Cancer* 2006; 13(3): 236-248 •
34. Hauser-Kronberg C, Dandachi N, Comparison of chromogenic in situ hybridization with others methodologies for HER2 status assessment in breast

- cancer *J Mol Histology* 2004; 35:647-653 •
- 35.** Schmidt M, Lewark B, Kohlschmidt N, et al Long-term prognostic significance of HER-2/neu in untreated node-negative breast cancer depends on the method of testing *Breast Cancer Res* 2005; 7:R256-R266 •
- 36.** Tse CH, Brault D, Gligorov J, et al. Evaluation of the quantitative analytical methods Real-Time PCR for HER-2 gene quantification and Elisa of serum HER-2 protein and comparison with fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry for determining HER2 status in breast cancer patients *Clinica Chem* 2005; 51(7): 1093-1101 •
- 37.** Rosen PP. *Rosen's Breast Pathology*, Philadelphia, Pennsylvania, Lippincott-Raven Publishers 1997 •
- 38.** Zhou DJ, Ahujd H, Cline MJ. Proto-oncogene abnormalities in human breast cancer: c-erbB2 amplification does not correlate with recurrence of disease. *Oncogene* 1989; 4: 105-108 •
- 39.** Tsuda H, Hirohashi S, Shimamoto Y. Correlations between long-term survival in breast cancer patients and amplification of two putative oncogene-coamplification units: hst-1/int-2 and c-erbB-2/ear1. *Cancer Res* 1989; 49: 3104-3108 •
- 40.** Wright C, Angus B, Nicholson S. Expression of C-erbB-2 oncoprotein: a prognostic indicator in human breast cancer. *Cancer Res* 1989; 49: 2087-2090 •
- 41.** Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER2/neu oncogene *Science* 1987; 235:177-182 •
- 42.** Slamon DJ et al Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2. *NEJM* 2001; 244: 783-792 •
- 43.** Gusterson BA, Gelber RD, Goldhirsch A y cols. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1049-1056 •
- 44.** Lodato RF, Maguire HC, Greene MI y cols. Immunohistochemical evaluation of c-erbB-2 oncogene expression in ductal carcinoma in-situ and atypical ductal hyperplasia of the breast. *Mod. Pathol* 1990; 3: 449-454 •
- 45.** Wright C, Nicholson S, Angus B y cols. Relationship between c-erbB-2 protein product expression and response to endocrine therapy in advanced breast cancer. *Br J Cancer* 1992; 65: 118-121 •
- 46.** Selvarajan S, Bay BH, Chang MJ, Tan PH. The Herceptest and routine c-erbB2 IHC in Breast cancer: any difference? *Ann Acad Med Singapore*. 2004; 33: 473-476 •
- 47.** Harris C. Structure and function of the p53 tumor suppressor gene: clues for rational cancer therapeutic strategies. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1442-55 •
- 48.** Thor AD, Moor DH, Edgerton SM y cols. Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein: an independent marker of prognosis in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 845-855 •
- 49.** Isola J, Visakorpi T, Holli K y cols. Association of overexpression of tumor suppressor protein p53 with rapid cell proliferation and poor prognosis in node negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1109-1114 •
- 50.** Kleihues P, Schauble B, Zur Hausen y cols. Tumors associates with p53 germline mutations a synopsis of 91 families. *Am J Pathol* 1997; 150: 1-13 •
- 51.** Sobol H. BRCA-1 and p53 relationship in hereditary breast cancer. *Int J Oncol* 1997; 10: 349-353 •
- 52.** Elledge RM, Green S, Howes L y cols. Bcl-2, p53 and response to tamoxifen in estrogen receptor positive metastatic breast cancer: a Southwest oncology group study. *J Clin Oncol* 1997; 15: 1916-22 •
- 53.** Osborne C, Wilson P, Tripathy D. Oncogenes and tumor suppressor genes in breast cancer: potential diagnostic and therapeutic applications. *Oncologist* 2004; 9:361-377 •
- 54.** Walsh T, King M. Ten genes for inherited breast cancer. *Cancer Cell* 2007; 11:103-105 •
- 55.** Lacroix M, Toillon R, Leclercq G p53 and breast cancer, an update *Endocr Relat Cancer* 2006; 13:293-325 •
- 56.** Hellems P, Van Dam PA, Weyler J y cols. Prognostic value of bcl-2 expression in invasive breast cancer. *Br J Cancer* 1995; 72: 354-360 •
- 57.** Moran RE, Black HM, Alpert L y cols. Correlation of the cycle kinetics, hormone receptor, histopathology and nodal status in human breast cancer. *Cancer* 1984; 54: 1586-1590 •
- 58.** Dressler LG, Eudey L, Gray R y cols. Preliminary analysis the impact of DNA flow cytometry measurements to predict time to recurrence in the intergroups (1NTO11) node negative clinical trial: an eastern cooperative oncology group study. *J Natl Cancer Inst monogr* 1992; 11: 167-172 •
- 59.** Fisher B, Gundu N, Constantino J y cols. DNA flow cytometric analysis of primary operable breast cancer: relation of ploidy and s-phase fraction to prognosis of patients in NSABP B04. *Cancer* 1991 68: 1465-1475 •
- 60.** Wencer CR, Clark GM. S-phase fraction and breast cancer: a decade of experience (review). *Breast Cancer Res Treat* 1998; 51:255-265 •
- 61.** Dettmar P, Harbeck N, Thomssen C y cols. Prognostic impact of proliferation associated factors MIB1 (ki67) and s-phase in node-negative breast cancer. *Br J Cancer* 1997; 75: 1525-1533 •
- 62.** Catoretti G, Becker MHG, Key G. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB1 and MIB3) detect proliferating cells in microwave processed formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol* 1992; 168: 357-363 •
- 63.** Pinder SE, Wecyk P, Sibbering DM y cols. Assessment of the new proliferation marker MIB1 in breast carcinoma using image analysis associations with other prognostic factors and survival. *Br J Cancer* 1995; 71: 146-149 •
- 64.** Llota LA, Steed PS, Stetler-Stevenson WG. Cancer metastases and angiogenesis: an imbalance of positive and negative regulation. *Cell* 1991; 64: 327-336 •
- 65.** Gasparini G, Folkman J, Possa F y cols. Tumor angiogenesis (TA) quantitation by factor VIII-related antigen immunocytochemistry: a new highly significant and independent prognostic indicator (PI) in early stage breast carcinoma (ASBC). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1992; 11: A40 •