

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



## INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA DE MÉXICO

### “Clasificación Molecular del Cáncer de Mama por Inmunohistoquímica en Mujeres Mexicanas: Nuevos Subtipos con Relevancia Clínica”

**Investigador Principal:**  
*Ernesto José Zepeda Castilla*

**Tutor:**  
*Carlos Daniel Robles Vidal*

**Colaboradores:**  
*Juan Enrique Bargalló Rocha*  
*Víctor Manuel Pérez Sánchez*  
*Teresa Andrea Vela Chávez*  
*Diana Vilar-Compte*

**Fecha:**  
29 de septiembre de 2006.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA**



**INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA  
DE MÉXICO**

---

**DR. EDUARDO CERVERA CEBALLOS**  
Subdirector de Educación Médica en el INCan.

---

**DR. CARLOS DANIEL ROBLES VIDAL**  
Asesor

---

**DR. ERNESTO JOSE ZEPEDA CASTILLA**  
Residente del 3er. año de Cirugía Oncológica

Portada  
Introducción  
Hipótesis de trabajo  
Objetivos  
Diseño experimental  
Material y métodos  
Resultados  
Discusión  
Bibliografía  
Anexos

Palabras Claves: Clasificación molecular, inmunohistoquímica, cáncer de mama, mujeres mexicanas, basal like, triple negativo, Her2neu, luminal A, Luminal B.

## **Introducción:**

El cáncer de mama continúa siendo diagnosticado en un gran número de habitantes y es un problema mayor de salud mundial.<sup>1</sup> Para el año 2002 se registraron 1, 151, 298 nuevos casos, lo que representó el 10% de todos los cánceres en el mundo. Los pacientes en países menos desarrollados se encuentran en etapas más avanzadas al diagnóstico y tienen resultados más pobres con los tratamientos.<sup>2</sup> En México para el año 2002 se registraron 108,064 tumores malignos y el cáncer de mama representó la segunda causa de morbilidad y mortalidad en mujeres con 11,656 casos nuevos para un 17% y representó el 13% de las muertes por cáncer, con 3,861 muertes y una tasa de 15.4 defunciones por 100,000 mujeres de 25 años y más.<sup>3</sup>

El cáncer de mama es subcategorizado rutinariamente en base al estadio clínico, la morfología celular y el análisis inmunohistoquímico de un pequeño número de marcadores. Las pacientes con cáncer de mama se pueden curar solo con tratamientos loco-regionales o por la incorporación de tratamientos sistémicos con un aumento en los efectos colaterales y costos, por ello es imperativo determinar factores pronósticos y predictivos contundentes que nos permitan diferenciar a las pacientes según el grupo de riesgo y nos auxilien en la toma de decisiones terapéuticas. La elección del tratamiento postoperatorio del cáncer de mama está basado sobre parámetros clínicos (edad), histopatológicos (estado ganglionar, tamaño tumoral y el grado histológico) y la biología celular del receptor de estrógeno (RE) y del receptor de progesterona (RP).<sup>4</sup> Recientemente se agregaron dos factores en el consenso de St Gallen 2005 y que son suficientemente seguros para definir las categorías de riesgo. El primero es la sobre expresión o amplificación de HER2/neu y el segundo factor pronóstico adverso es la invasión vascular peri tumoral especialmente la invasión linfovascular. Así contamos con varios instrumentos que nos ayudan a estimar el riesgo de eventos relacionados al cáncer de mama y nos son útiles para la reducción de los efectos colaterales por los tratamientos aplicados relacionados a la disminución de sus costos.<sup>5</sup>

La heterogeneidad clínica del cáncer de mama se ha reconocido por los clínicos, encontramos tumores mamarios con cuadros histopatológicos similares, los cuales exhiben resultados clínicos y respuestas a los tratamientos muy diversos. Publicaciones recientes han propuesto un nuevo sistema de clasificación molecular del cáncer de mama usando micro arreglos de cADN.<sup>9</sup> Se han encontrado subtipos de cáncer de mama con diferentes patrones genéticos y pronósticos que persisten tanto en el tumor primario como en sus metástasis.<sup>7,9-16</sup> Estos estudios dividen al cáncer de mama en dos grupos principales basados en la presencia o ausencia de la expresión

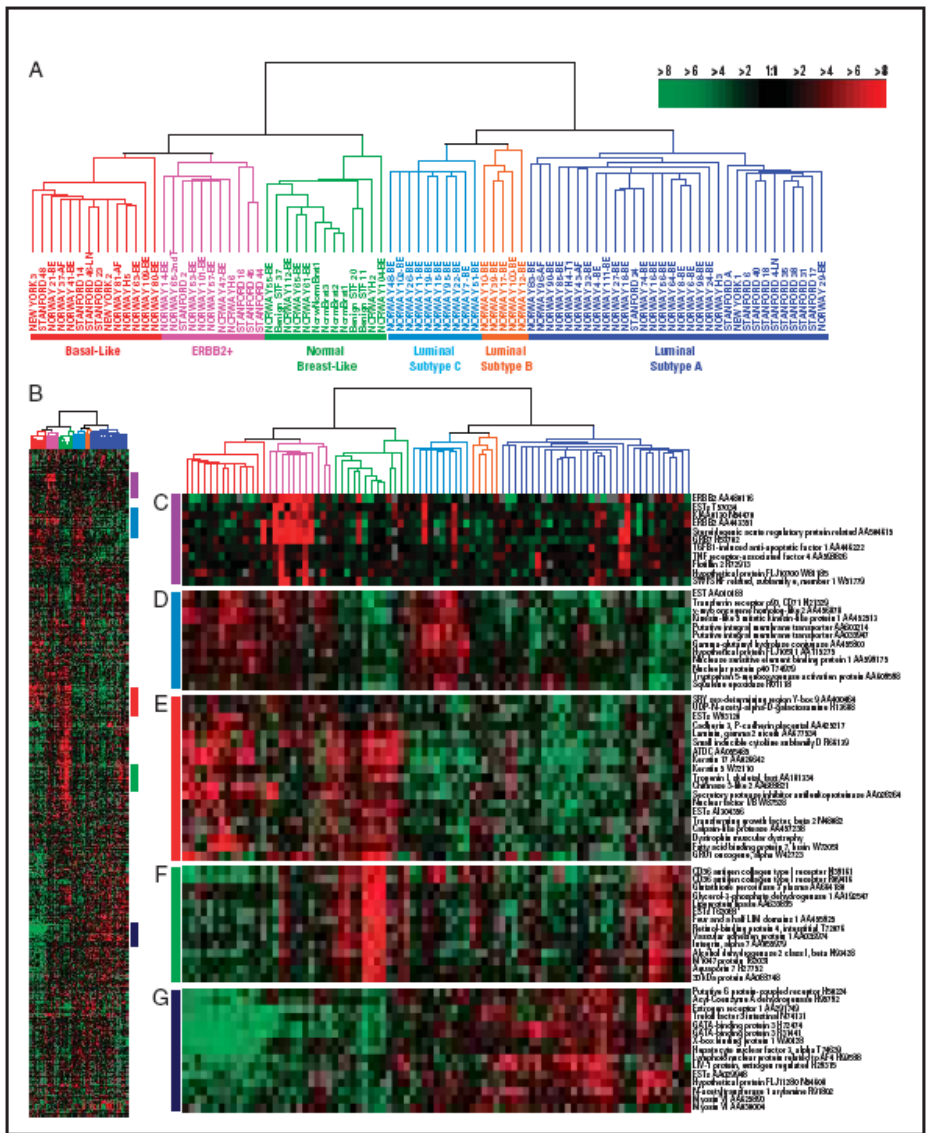
del receptor de estrógeno (RE) el cual se ha observado como el factor discriminador más importante del subtipo molecular. Los tumores RE- positivos se subdividen en Luminal tipo A o luminal tipo B y los tumores RE- negativos se ha subdividido en dos subtipos principales: tipo basal y Her-2. Todos ellos con implicaciones clínicas y diferentes pronósticos.<sup>7,11,14-15</sup> Otros investigadores han caracterizado y validado estos subtipos por inmunohistoquímica (IHQ); además de encontrar diferencias importantes en cuanto a la raza y estado menopáusico.<sup>21,23,35</sup> Las mujeres hispanas en Nuevo México tienen un mayor riesgo de recurrencia y muerte por cáncer de mama comparada a mujeres no hispanas lo cual puede deberse entre otros factores a un pobre acceso a los programas de escrutinio y a cuidados de la salud, nivel socioeconómico mas bajo y a diferencias étnicas basadas en la biología molecular de sus tumores. Similarmente se han encontrado diferencias en mujeres afro americanas en quienes se ha comprobado diferencias en la incidencia de subtipos moleculares expresando más frecuentemente subtipos de mal pronóstico. Las mujeres clasificadas como blancas hispanas representan una población heterogénea y pocos estudios han evaluado los subgrupos en esta población con respecto a las características del cáncer de mama en hispanos.<sup>35-37</sup> Desconocemos la variabilidad de los subtipos moleculares y diferencias en términos de características clínicas, histopatológicas, resultados a los tratamientos administrados y comportamiento en las mujeres mexicanas las cuales representan una muestra de las mujeres latinas con cáncer de mama. Los altos costos de la medicina genómica y la complejidad del análisis de micro arreglos en el cáncer de mama, hacen de esta técnica un método difícil de utilizar en países en vías de desarrollo siendo la realidad para la mayoría de los países de América Latina. El objetivo del estudio será determinar la prevalencia de los subtipos moleculares identificados por inmunohistoquímica y describir las características clínicas, patológicas y tratamientos recibidos así como evaluar la supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global según los subtipos moleculares identificados por inmunohistoquímica en la población mexicana.

## **Definición del Problema**

¿Cuál es el comportamiento y los resultados del tratamiento del cáncer de mama según los subtipos moleculares identificados por inmunohistoquímica en mujeres mexicanas del Instituto Nacional de Cancerología?

## **Antecedentes**

El manejo del cáncer de mama ha cambiado drásticamente con el advenimiento de programas amplios de detección, y el uso sistemático de quimioterapia y hormonoterapia adyuvante. Reportes actuales nos muestran que estos cambios han impactado en los resultados; aun con el aumento de la incidencia del cáncer de mama, hay una disminución en la mortalidad, sobretodo en países del occidente.<sup>1</sup> La heterogeneidad clínica del cáncer de mama se ha reconocido por los clínicos; encontramos tumores con cuadros histopatológicos similares, los cuales exhiben resultados clínicos y respuestas a los tratamientos muy diversos. El haber completado el proyecto del genoma humano y el desarrollo de alta tecnología respecto a los micro arreglos, nos condujo a iniciar el conocimiento y comprensión del perfil molecular del cáncer. Publicaciones recientes han propuesto un nuevo sistema de clasificación molecular del cáncer de mama basado en un método de agrupamiento jerárquico más que en el estadiaje anatómico.<sup>2</sup> Estos investigadores utilizando micro arreglos de ADN demostraron la presencia de subtipos de cáncer de mama con diferentes patrones genéticos y pronósticos que persisten tanto en el tumor primario como en sus metástasis.<sup>3</sup> **Fig. 1**



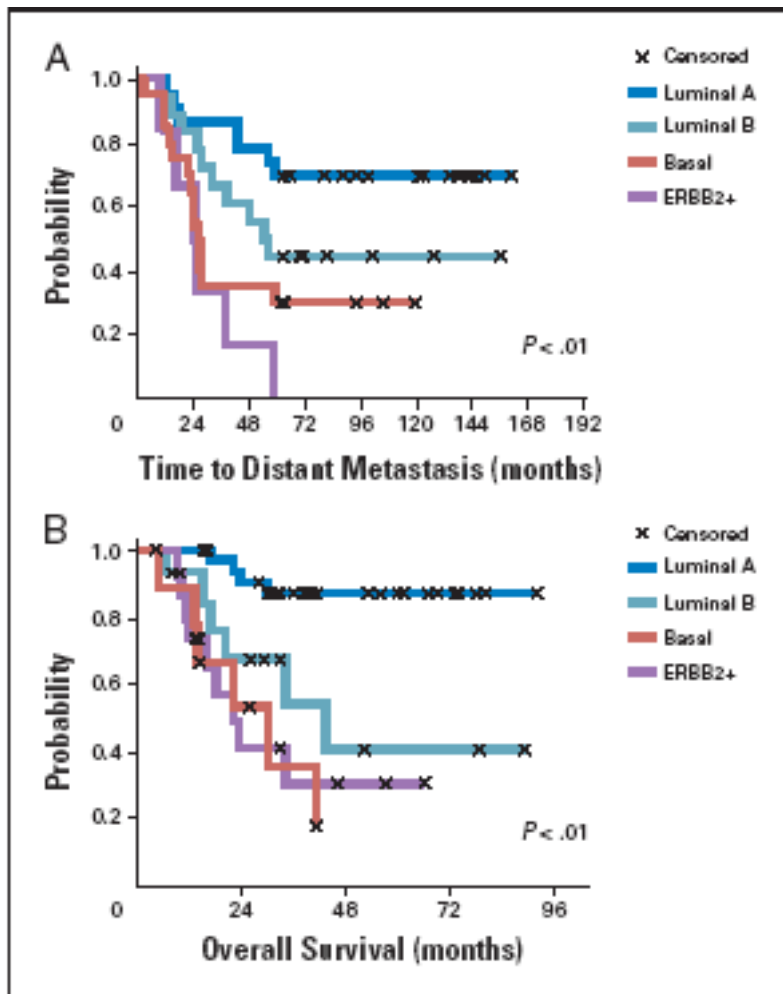
**Fig. 1** Clasificación molecular del cáncer de mama.<sup>7</sup>

Estos estudios dividen el cáncer de mama en dos grupos principales basados en la presencia o ausencia de la expresión del receptor de estrógeno (RE) el cual se ha observado como el factor discriminador más importante del subtipo molecular.<sup>7,9-15</sup> Los tumores **RE-positivos** pueden a su vez subclasificarse en dos subgrupos relacionados con el nivel de expresión del RE y genes relacionados así como también con el grado de expresión de genes asociados a la proliferación celular. Estos se han descrito como subgrupo **luminal**, secundario a su alta expresión de genes, normalmente expresados por las células epiteliales luminales del tejido mamario. Se encuentran dos subtipos: **luminal A** y **luminal B**; los cuales se distinguen por su marcada variabilidad en expresión genética y pronóstica.<sup>7</sup>

Los tumores **RE-negativos** se caracterizan por una alta expresión de genes, normalmente expresados por las células basales o mioepiteliales del tejido mamario. Este grupo se ha



subdividido en dos subtipos principales: **tipo basal y Her-2**. Estos subtipos se diferencian en su biología y comportamiento, ambos muestran un peor pronóstico y pobres resultados a los tratamientos conocidos en la actualidad.<sup>9</sup> Fig. 2



**Figura 2.** Diferencia en la supervivencia según los subtipos moleculares por micro arreglos.<sup>14</sup>

Los dos últimos tienen un curso clínico más agresivo y un peor pronóstico comparados con los subtipos luminales y paradójicamente tienen las más altas respuestas a la quimioterapia neoadyuvante.<sup>25</sup>

Molecular classification	Pathologic complete response		<i>P</i> < 0.001
	No	Yes	
Luminal A/B subtype	<i>n</i> [% (95% CI)] 28 [93% (78-99)]	<i>n</i> [% (95% CI)] 2 [7% (1-22)]	
Normal breast like	10 [100% (29-100)]	0 [0% (0-31)]	
erbB2+	11 [55% (32-77)]	9 [45% (23-68)]	
Basal subtype	12 [55% (32-76)]	10 [45% (24-68)]	

**Tabla 1.** Respuestas patológicas completas según subtipos moleculares.<sup>25</sup>

Sin embargo para el subtipo Her2/neu+ existe un tratamiento blanco dirigido como es el agente trastuzumab (Herceptin®), no así para el basal like conocido además como **triple negativo** (RE -, RP - y Her2/neu-) por la falta de expresión de estos receptores por inmunohistoquímica.<sup>7</sup> En este último se ha demostrado que existe una alta expresión (64%) del receptor del factor de crecimiento del epidérmico HER1 (RFCE).<sup>38</sup>

La poderosa herramienta de la biología molecular ahora nos permite ver más allá y dentro del universo celular del cáncer de mama, expandiendo los horizontes de su conocimiento y entendimiento. Aun en el centro de este complejo y vasto espacio molecular, los receptores esteroideos juegan un papel muy importante y crucial en la biología básica de la enfermedad y también nos ilustran en las vías involucradas del manejo clínico y terapéutico de las mujeres con cáncer de mama. A inicios de los años 60s estrógenos radio marcados fueron inicialmente concentrados preferentemente en tejidos blancos animales y también en el cáncer mamario humano, observaciones que dieron lugar al concepto del receptor estrogénico. Desde esta fecha se volvió claro que el cáncer de mama humano depende de estrógeno o progesterona o de ambos para crecer. Este efecto estimulador es mediado por el receptor de estrógeno (RE) y del receptor de progesterona (RP). Ambos se encuentran expresados en la mayoría de los tejidos mamaros malignos. Estos receptores proteicos funcionan como factores de transcripción al unirse a sus respectivos ligandos. Por otro lado el RE y el RP pueden ser utilizados como factores pronósticos y como factores predictivos, indicando la probabilidad de respuesta o no a la hormonoterapia o bien como indicativo de la agresividad biológica inherente de un tumor reflejando la historia natural de la enfermedad después del tratamiento local.

Aunque los resultados son variables en la literatura, los grandes estudios con adecuados seguimientos han demostrado consistentemente que los tumores RE positivos tienen un periodo libre de enfermedad más largo comparados a los pacientes con RE negativos. Datos de estudios como el San Antonio y NSABP indican que el periodo libre de enfermedad tiene una ventaja de 10% a 5 años. Teóricamente la presencia del RP es un indicador de una vía estrógenica de respuesta intacta, porque se produce por la estimulación estrógenica. El estado del RE es un factor pronóstico contundente de supervivencia libre de enfermedad; el RP se encuentra más asociado a supervivencia global porque es un mejor predictor de respuesta a la terapia endocrina aún después de la recaída de la enfermedad.<sup>47</sup> El porcentaje de células RE positivas en la glándula mamaria normal es bajo (10-20%). El RE  $\alpha$  se encuentra en 50-80% de los cánceres de mama. El estado del RE positivo se correlaciona con cuadros pronósticos favorables incluyendo un bajo porcentaje de proliferación celular y evidencia histológica de diferenciación tumoral.<sup>48</sup> Debido a que la expresión del RP es inducida por el RE, se ha estudiado como un marcador

sustituto para actividad RE y se ha utilizado como un factor predictivo adicional del uso de hormonoterapia en cáncer de mama. El RP esta expresado en el 50-60% de los canceres mamarios.<sup>49</sup>

La sobre expresión del receptor de crecimiento epidérmico humano (HER), miembros de la familia HER1 (RFCE/ceerbB-1) y HER2 (neu/c-erbB-2) se asocia a una menor supervivencia de los pacientes con cáncer de mama. El HER2 esta sobre expresado o amplificado en el 20-30% de los canceres de mama. El HER1 esta expresado en el 16.4% del cáncer mamario. Y ambos están sobre expresados en el 5.5%.<sup>50-51</sup>

Después del uso de algunos marcadores clínicos se necesitan indicadores pronósticos mas sensibles y específicos debido a que la enfermedad recurre en aproximadamente un tercio de mujeres con cáncer de mama y ganglios negativos y un tercio de las mujeres con ganglios positivos están libres de enfermedad a 10 años posterior a los tratamientos. Recientemente las guías de la American Society of Clinical Oncology recomiendan la determinación rutinaria del RE, RP y del HER-2/neu para el manejo del cáncer de mama.<sup>1,2,5</sup>

El cáncer de mama ha sido rutinariamente subcategorizado sobre el estadio clínico, la morfología celular y el análisis inmunohistoquímico de un pequeño número de marcadores entre ellos los receptores hormonales. Las pacientes con cáncer de mama pueden curarse solo con tratamientos loco-regionales o por la incorporación de tratamientos sistémicos con el inconveniente de un aumento en los efectos colaterales y costos. Entonces se hacen necesarios factores pronósticos contundentes para diferenciar a las pacientes según el grupo de riesgo, que nos ayuden en la toma de decisiones terapéuticas. La elección del tratamiento postoperatorio del cáncer de mama esta basado sobre parámetros clínicos (edad), histopatológicos (estado ganglionar, tamaño tumoral y el grado histológico) y la biología celular del receptor de estrógeno (RE) y del receptor de progesterona (RP). Recientemente en el consenso de St Gallen se agregaron dos factores que no habían sido aceptados y que son suficientemente seguros para ayudar a definir las categorías de riesgo. El primero es la sobre expresión o amplificación de HER2/neu y el segundo factor pronóstico adverso es la invasión vascular peri tumoral especialmente la invasión linfovascular.<sup>5</sup> Después del establecimiento de los criterios estandarizados histoclínicos (conferencias y consensos del NIH y San Gallen) la decisión sobre tratar pacientes con cáncer y ganglios negativos con o sin quimioterapia adyuvante han iniciado una búsqueda de información sobre el riesgo de recaída metastásica. Aunado a esto se trata de identificar entre los pacientes que reciben quimioterapia, aquellos que se puedan beneficiar o no de protocolos estándares basados en antraciclinas. Las técnicas moleculares a gran escala como los microarreglos de ADN contribuyen al entendimiento de la complejidad molecular del

cáncer de mama. Varios estudios nos han mostrado la potencial utilidad clínica del perfil de expresión genética incluyendo la identificación de subclases pronósticas. Los altos costos, la complejidad en la realización e interpretación de los microarreglos de ADN hacen que no estén al alcance como de uso habitual en la práctica clínica estándar. Existen recientemente posibilidades de identificar y/o validar firmas moleculares de los subtipos de cáncer de mama a través de técnicas como la inmunohistoquímica. Esta tiene la ventaja de ofrecer el estudio de muestras incrustadas en bloques de parafina.<sup>35</sup> Es de mayor importancia que actualmente se ha realizado una caracterización y clasificación similar del cáncer de mama utilizando inmunohistoquímica para analizar patrones de expresión proteica en tumores de mujeres portadoras de cáncer de mama y estos resultados proponen que se pueden utilizar pocos marcadores proteicos (RE, RP, HER2, HER1 y citoqueratinas basales) para estratificar en subgrupos similares a los mostrados por micro arreglos en el cáncer de mama.

Es muy importante conocer si un factor nuevo brinda información acerca del resultado clínico y la sensibilidad de este para predecir los resultados a los tratamientos, añadiendo mas información a la ya obtenida por los factores clásicos; dado que la mitad de los cánceres de mama diagnosticados en la actualidad acontecen en países del tercer mundo en donde el análisis de los factores pronósticos necesariamente debe ser económico, fácil de realizar y contar con una buena reproducibilidad. Así, es de vital importancia para países en vías de desarrollo que no cuentan con laboratorios de procesamiento genético sofisticado, la opción de caracterizar por inmunohistoquímica, un método menos costoso y con una menor exigencia técnica, a los subtipos de cáncer de mama basados en las descripciones abajo mencionadas.<sup>20</sup>

Los subtipos clasificados por inmunohistoquímica difieren notoriamente en el pronóstico y en el repertorio de blancos terapéuticos dirigidos contra las dianas que ellos expresan. Los subtipos intrínsecos incluyen dos subtipos principales de **tumores RE negativos (*tipo basal*)** y el subtipo receptor del factor de crecimiento epidérmico humano tipo 2 positivo/RE negativo [**HER2+/RE-**] y al menos dos subtipos de **tumores RE positivos (*luminal A* y *luminal B*)**.<sup>7-15</sup>

Los tumores **tipo basal** muestran típicamente una baja expresión de HER2 y RE y exhiben una alta expresión de genes característicos de las capas celulares epiteliales basales, incluyendo la expresión de citoqueratinas 5, 6, y 17.<sup>7</sup>

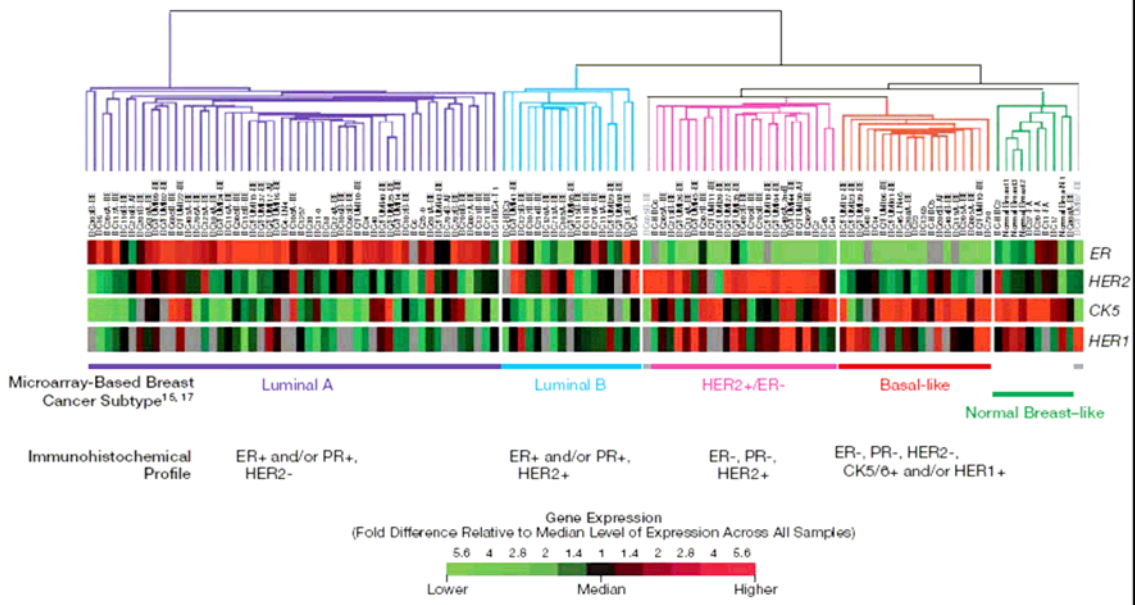
El **tumor HER2+** (gen amplificado y/o altamente proteína sobre expresada) cae dentro de al menos dos grupos de expresión diferente: los que son **RE negativos** y típicamente se agrupan cerca de los tumores tipo basal (**subtipo HER2+/RE-**) y los que son RE positivos (y pueden ser RP positivos) los cuales se agrupan con los tumores de origen celular luminal como parte de los subtipos luminal B.<sup>14-15</sup>

Comparados con los luminales B, los luminal A expresan altos niveles de RE y GATA3 y muestran un resultado mas favorable para los pacientes, donde los tumores luminales B mas frecuentemente expresan el receptor del factor de crecimiento epidérmico-1 (HER1), HER2 y/o ciclina E1. <sup>14-15</sup>

El perfil de inmunohistoquímica (IHQ) y caracterización de los subtipos moleculares fue inicialmente desarrollado utilizando las dos maneras: por análisis en microarreglos y por la determinación de IHQ para RE, HER2, HER1 y citoqueratinas 5 y 6 en una serie simple de canceres mamarios. Se validaron realizando sustitutos de microarreglos por IHQ en 930 casos en un estudio realizado por Nielsen et al en la Universidad Británica de Columbia. En este estudio inicial las definiciones basadas en IHQ fueron **luminal** (RE+ y HER2-), **subtipo HER2+** y el **tipo basal** (RE-, HER2-, y citoqueratinas 5/6+, y/o HER1+). <sup>20</sup>

Carey et al actualizaron la definición basada en IHQ de dos maneras.<sup>35</sup> Primero incluyeron al RP, el cual es otro marcador tumoral útil en el manejo del cáncer de mama y ampliamente probado, dentro del **subtipo luminal** porque el RP esta regulado por el gen RE y expresado en la mayoría de los tumores RE+, además de encontrarse asociado con las respuestas a hormonoterapia. Segundo reclasificaron a los **tumores HER2+** dentro de dos grupos basados en el estado de RE, debido a que el **HER2+/RE-** se agrupa diferente del **HER2+/RE+** en el análisis de agrupamiento jerárquico. De esta manera Carey et al refinaron el perfil de IHQ previo y lo definen de la siguiente manera. (Ver correlación en la figura).

**Figure 1.** Immunohistochemical Identification of Breast Tumor Intrinsic Subtypes



The 115 patient/tumor sample dendrogram was taken from the hierarchical clustering analysis of the breast intrinsic gene list.<sup>15,17</sup> Tissue samples in gray indicate unknown subtype. The gene expression data for estrogen receptor (*ER*), human epidermal growth factor receptor-2 (*HER2*), *CK5* (cytokeratin), and *HER1* are shown with red squares representing the highest average expression, black representing average gene expression, and green representing the lowest below average expression. Gray indicates gene expression data not available. Note that *PR* (progesterone receptor) was not included in this gene expression analysis because it was not present on these early generation microarrays. Below the gene expression data are the revised immunohistochemical (IHC) classification schema used in this study. *PR* was added to the IHC profile since it is an *ER*-regulated gene expressed in most *ER*+ tumors.

**Figura 3.**

Los tumores que son negativos a los 5 marcadores (RE, RP, HER2, HER1, citoqueratinas 5/6) fueron considerados como no clasificables.<sup>35</sup>

La prevalencia y la supervivencia de estos tumores difieren según la edad, el estado menopáusico y la raza.<sup>35</sup> El tipo basal fue más frecuente entre las mujeres Afro Americanas premenopáusicas (39%) comparado con las mujeres Afro Americanas posmenopáusicas (14%) y las mujeres no Afro Americanas (16%) de cualquier edad ( $P < .001$ ), donde el subtipo luminal A fue menos prevalente (36% vs 59% y 54%, respectivamente). No se encontró diferencia respecto al subtipo HER+/RE- en cuanto a la raza, la edad o el estado menopáusico (6%-9%). Comparado con los luminal A, los de tipo basal tienen un grado histológico más alto (OR, 8.3; IC 95% 4.4-15.6). Los subtipos difieren en la supervivencia específica de cáncer de mama ( $P < .001$ ), con la más corta supervivencia mostrada para el HER+/RE- y el tipo basal.

## **Justificación**

Las mujeres hispanas en Nuevo México tienen un mayor riesgo de recurrencia y muerte por cáncer de mama comparada a mujeres no hispanas, lo cual puede deberse a diferencias étnicas basadas en la biología molecular de sus tumores. Similarmente se han encontrado diferencias en mujeres afro americanas en cuanto a la prevalencia de los subtipos moleculares expresando más frecuentemente subtipos de mal pronóstico. Desconocemos la variabilidad de los subtipos moleculares y diferencias en términos de características clínicas, resultados con los tratamientos recibidos y la evolución de las mujeres mexicanas con cáncer de mama. Los altos costos de la medicina genómica y el análisis de micro arreglos hacen de esta técnica un método difícil de aplicar en países en vías de desarrollo siendo la realidad para la mayoría de los países de América Latina. Otros autores han identificado y estratificado, con una buena reproducibilidad en sus hallazgos, estos subtipos a través de técnicas de inmunohistoquímica, los cuales son estudios más factibles para países Latinoamericanos. No contamos con estudios de esta naturaleza en la población mexicana.

## **Hipótesis**

Las diferencias en los subtipos moleculares del cáncer de mama en mujeres mexicanas son influenciadas por la raza secundaria a una expresión genética en particular o son debidas a un pobre acceso a los cuidados de salud y a óptimos tratamientos.

La supervivencia libre de enfermedad y global de las mujeres mexicanas con cáncer de mama es menor debido a una mayor incidencia en la expresión de subtipos moleculares de mal pronóstico.

### **Hipótesis nula**

Ho:  $P = P_i$

La expresión genética de los subtipos moleculares en mujeres mexicanas es IGUAL al grupo de pacientes reportados en la literatura Y NO ES MENOR la supervivencia global y el periodo libre de enfermedad.

**Hipótesis alterna**

Hi:  $P > P_i$

Las mujeres mexicanas con cáncer de mama expresan mas frecuentemente tumores con perfil genético de mal pronóstico identificados por IHQ y es lo que condiciona una menor supervivencia global y el menor periodo libre de enfermedad.

**Objetivos****Primario:**

Determinar la prevalencia de los subtipos moleculares identificados por IHQ.

**Secundarios:**

- Describir las características clínicas, patológicas y tratamientos recibidos.
- Evaluar los posibles factores asociados con supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global de los pacientes con cada subtipo molecular.
- Comparar los resultados proyectados a 5 años usando la clásica información patológica, incluyendo TNM según AJCC 2002, estado de los receptores hormonales y grado histológico con los subtipos moleculares identificados en los pacientes tratados.



## **Material y Métodos**

### **Determinación de Receptores de Estrógenos, Progesterona, Her2-neu. en el tejido tumoral incrustado en bloques de parafina:**

Usando un panel de anticuerpos para la detección de los receptores de estrógenos, progesterona y el Her2-neu, se determinó la prevalencia de los subtipos moleculares en una serie de tumores de mama invasores de mujeres mexicanas atendidas en el Instituto Nacional de Cancerología de México, un centro de atención terciaria al cuidado de pacientes con cáncer.

Se revisaron las tinciones de inmunohistoquímica para su documentación. El estado del receptor de estrógeno (100%), receptor de progesterona (100%) y Her2-neu (75%) fueron capturados del registro patológico de la hoja diseñada para tal fin en el expediente clínico. Se realizaron nuevas determinaciones de Her2-neu por inmunohistoquímica aplicando el Herceptest® (Laboratorios Roche) en el 25% de los casos. El receptor de estrógeno se identificó mediante la tinción por inmunohistoquímica, se utilizaron anticuerpos DAKO 1D5 (Dako, USA). El receptor de progesterona se identificó mediante la tinción de inmunohistoquímica utilizando anticuerpos DAKO K1904 (Dako, USA). La técnica utilizada se estandarizó por el grupo de trabajo en el departamento de patología. De acuerdo al criterio de los patólogos (T. V. CH. y V. M. P.) se consideraron:

- 0 ninguna.
- + tinción débil.
- ++ tinción moderada.
- +++ tinción intensa.

Se consideraron positivos valores proteicos  $\geq 10$  fmol mg<sup>-1</sup> cuando se usó mediante el método bioquímico por inmunoensayo enzimático y por inmunohistoquímica considerando el puntaje asignado según la proporción de células tumorales con tinción positiva (0, 1, 10 o 100%) si la tinción de cualquier intensidad fue vista en más del 10% de las células. Se aplicó la escala H – Score, considerando el receptor de estrógeno positivo si es mayor de 20 y el receptor de progesterona mayor de 5. Para efecto de la clasificación El HER2/neu se consideró positivo a aquella tinción débil o de mayor intensidad en la membrana o una tinción en la membrana y citoplasma en al menos 10% de las células tumorales o con puntaje de 2+ o 3+ por IHQ o bien los confirmados por amplificación genética por el método FISH.

El protocolo fue sometido a revisión por el comité científico y ético del Instituto Nacional De Cancerología, aún cuando representa un riesgo menor al mínimo. Posterior a su aprobación se procedió con la recolección de datos y la determinación del Her2 neu por IHQ.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y VALIDACIÓN DE DATOS**

Los resultados obtenidos se grabaron en soporte magnético en una base de datos diseñada para tal efecto. Una vez obtenidos los datos se vaciaron en el programa computadorizado y se procedió al análisis estadístico. Se estimaron las tasas de prevalencia de los subtipos moleculares. Para todos los análisis en los que se precisó se fijó un nivel de significancia del 0,05 y una potencia del 80%.

### **Valoración Clínica:**

Se llevó a cabo una revisión del expediente clínico, se hizo énfasis en la historia clínica y la exploración física registrada, en los que se incluyó la medición del tumor primario en diámetros máximos, así como las características y tamaño de ganglios regionales y distantes. Se revisaron los estudios de gabinete e histológicos reportados. Las notas de procedimientos quirúrgicos, hojas de aplicación de tratamientos como quimioterapia y radioterapia. Se verificó que las pacientes cumplieran con los criterios de inclusión del protocolo.

Se efectuaron estudios patológicos como la determinación de Her2-neu cuando esta determinación no se realizó por inmunohistoquímica, idealmente para refinar la clasificación de los subtipo basal se deberá determinar la expresión de de HER1 y/o citoqueratinas 5/6 en el tejido tumoral incrustado en bloques de parafina de los pacientes con RE, RP y Her2-neu negativos (triples negativos). Aunque esta determinación esta pendiente de realizar y reportar, nosotros estratificamos la clasificación molecular basados en la expresión únicamente de RE, RP y Her2-neu en parte debida a la naturaleza retrospectiva del estudio, la reproducibilidad de estas determinaciones en la mayoría de laboratorios de patología del país y a los costos derivados de la determinación de HER1 y/o citoqueratinas 5/6. Los estudios de gabinete a evaluar incluyeron mastografías, ultrasonidos mamarios, tele radiografía de tórax, gamma grafía ósea, TAC y/o IRM de tórax, abdomen y pelvis así como todos aquellos exámenes radiológicos que de acuerdo con el criterio del médico fueron apropiados para obtener una valoración basal o de seguimiento del enfermo.

### **ESCALAS DE MEDICION.**

#### **Evaluación de la supervivencia libre de enfermedad.**

El tiempo libre de enfermedad se midió en todos los pacientes a partir de la fecha del primer tratamiento del tumor hasta la fecha en que se documenta la recaída de la enfermedad.

Aquellos pacientes que murieron a causa de la enfermedad en quienes no es posible determinar la fecha de progresión tumoral, se consideró la fecha del deceso como la fecha de la recaída.

#### **Evaluación de la supervivencia global.**

El tiempo de supervivencia global se midió en todos los pacientes a partir de la fecha del primer tratamiento del tumor primario hasta la fecha de defunción, o de la última consulta al seguimiento en el caso de los pacientes perdidos.

#### **Clasificación molecular de los tumores por inmunohistoquímica.**

Se clasificaron a los tumores como subtipo **triple negativo** (RE-, RP-, Her2/neu-), el subtipo **Her2-neu/RE-** cuando resulta positivo el Her2-neu por inmunohistoquímica con 2+ o 3+, o positivo por FISH y fue RE - ; el subtipo **luminal A** como aquel positivo por IHQ para RE y/o RP y Her2/neu negativo, el subtipo **luminal B** como aquel positivo por IHQ para RE y/o RP y Her2/neu positivo con 2 + o más por inmunohistoquímica y/o amplificado según FISH.

#### **Manejo de datos y métodos estadísticos.**

La captura y procesamiento de la base de datos se realizó con el paquete de SPSS versión 12.0. El análisis es presentado de forma estratificada según la variable estado de la menopausia en dos grupos: premenopáusicas y posmenopáusicas. Las diferencias entre los subtipos moleculares por IHQ del cáncer de mama con respecto a las características clínico-patológicas fueron examinadas usando el análisis de varianza de una vía (ANOVA) para la edad, número de ganglios axilares patológicos afectados y la prueba de  $\chi^2$  para el resto de las variables. La prueba exacta de Fisher se utilizó cuando la cuenta esperada de la celda era menor de 5 usando el método de Monte Carlo como es descrito en la versión 12.0 del SPSS. Las variables fueron elegidas basadas en el interés clínico y se incluyen edad, estado menopáusico, estadio clínico al diagnóstico, tipo histológico (carcinomas ductal, lobulillar, mixtos y otros), estado de los ganglios linfáticos axilares por clínica y estado de los mismos en el reporte patológico, el cociente de afectación de los mismos, clasificación histológica, grado histológico según el Scarff-Bloom-Richardson, presencia o ausencia de necrosis y permeación linfovascular, estado de los receptores hormonales y del Her2-neu, la enfermedad metastásica visceral y ósea al diagnóstico y a la recaída, tipo de procedimiento en el tumor primario, manejo quirúrgico de la axila, tipo y forma de aplicación de los tratamientos como quimioterapia, hormonoterapia y radioterapia (neoadyuvante, adyuvante y paliativa) y la documentación de las respuestas patológicas a los tratamientos de inducción o neoadyuvantes (como enfermedad residual y respuesta completa, esta última definida

como aquella ausencia de cáncer invasor tanto en la mama como en la axila, los pacientes solo con enfermedad residual de cáncer in situ también se consideraron como respuesta completa).

Las curvas de supervivencia se generaron utilizando el método de Kaplan-Meier y la prueba de log-rank se utilizó para comparar la media de supervivencia y el periodo libre de recaída cruzados con los subtipos moleculares por IHQ. Las fechas y las causas de muerte se documentaron del expediente clínico y de los certificados de defunción registrada en el expediente clínico cuando el fallecimiento ocurrió intra-hospitalaria y fueron asignadas sin conocimiento de los subtipos moleculares por IHQ del cáncer de mama.

El análisis estadístico fue realizado por E. Z. C.

## Resultados

### Población de Pacientes:

Bajo el código internacional C50 de la clasificación internacional de enfermedades para oncología, se documentaron un total de 2150 casos de cáncer de mama con bloques de parafina registrados en el departamento de patología, en los que se había realizado la determinación de RE y RP, de estos se excluyeron aproximadamente 30% por diversas razones (carcinoma in situ, mala preservación de los bloques, ausencia de los mismos, muestra insuficiente). De 2150 casos que contaban con determinación de RE y RP solamente 182 casos tenían determinación previa al estudio de Her2neu por IHQ, un caso se encontró con Her2neu + por el método de FISH. Adicionalmente se les realizó determinación de Her2neu por IHQ aplicando el Herceptest® a 60 pacientes. Se incluyeron un total de 242 pacientes de ellas 124 fueron premenopáusicas y 118 posmenopáusicas.

### Subtipos Moleculares por IHQ en Asociación con los Datos Clínicos y Demográficos

Las características generales de los 242 pacientes se presentan en la **tabla 2**. La edad media al diagnóstico fue de 48 años (DE 11.7), rango de 54, min. 25 y máx. 79. Los subtipos no difieren significativamente por edad ( $P=NS$ ), estado ganglionar axilar al diagnóstico ( $P=NS$ ), tipo histológico ( $P=NS$ ) pero si para el estado menopáusico ( $P=.039$ ), grado histológico ( $P<.032$ ). Las pacientes con tumores luminal B y triple negativo tienden a ser de menor edad que el resto de pacientes, las pacientes con el subtipo Her2+/RE- y luminal B tienen una mayor tendencia a afección de ganglios axilares tanto en número ( $P<.006$ ) como en proporción. ( $P<.038$ ). Las pacientes con subtipos triple negativo y luminal B es más común que sean premenopáusicas contrario a los subtipos Her2+/RE- y luminal A que se presentan más frecuentemente en posmenopáusicas ( $P<.039$ ). Los tumores con subtipos Her2+/RE-, triple negativos y luminal B tienen un mayor grado histológico. ( $P<.032$ ), aunque las histologías no fueron significativas. Por otro lado encontramos tumores con más alta presencia de necrosis sobretodo en los tumores con sobre expresión de Her2 como el luminal B y el Her2+/RE- ( $P<.014$ ) contrario a los tumores luminal A y triple negativo.

En la población de estudio la prevalencia para el subtipo triple negativo fue de 21.9% (53 de 242 total de casos). Este subtipo fue más frecuente en mujeres premenopáusicas comprendiendo el 27% de 124 mujeres premenopáusicas contra 17% de posmenopáusicas (118 casos) ( $P=0.048$ ). La prevalencia para el subtipo Her2+/RE- fue del 13.6% (33 de 242 casos). Este subtipo fue más frecuente en mujeres posmenopáusicas comprendiendo el 19 % de 33 mujeres clasificadas con este subtipo contra 9% de premenopáusicas ( $P=0.021$ ). **Tabla 3.**

El subtipo luminal A se presentó de manera similar en pre y posmenopáusicas (49 vs 54%).

No existió diferencia en cuanto a la presentación por estadios clínicos en los diferentes subtipos moleculares. El subtipo luminal B fue más frecuente en mujeres premenopáusicas comprendiendo el 15% de 31 mujeres clasificadas con este subtipo contra 10% de posmenopáusicas ( $P=0.231$ ).

En cuanto a los tratamientos se observó una tendencia para administración homogénea de tratamientos neoadyuvantes, adyuvantes y paliativos en los pacientes según los subtipos moleculares. En los subtipos luminal B y triple negativo fue más frecuente la administración de quimioterapia adyuvante ( $P < .048$ ). Se produjeron 28 (19.6%) respuestas completas patológicas en un total de 143 pacientes tratadas con la modalidad neoadyuvante. Las respuestas completas patológicas con la quimioterapia y/o radioterapia neoadyuvante fueron mayores para los subtipos triple negativo y Her2+/RE- (22.9% vs 37.5% respectivamente).

La enfermedad metastásica fue menos común en el subtipo luminal A (28.8%) sin embargo este subtipo tuvo la más alta afectación de metástasis óseas (14.4%) [ $P < .0015$ ] comparado a los otros subtipos.

#### **Período libre de enfermedad por Subtipos IHQ.**

Los subtipos de cáncer de mama por IHQ varían significativamente en el período libre de enfermedad ( $P=.0116$ ). Las curvas de período libre de enfermedad se muestran en la **figura 4**. El subtipo luminal A presentó un período libre de enfermedad de 85.6 meses, con 31 eventos en 116 casos. El subtipo luminal B presentó un período libre de enfermedad de 69 meses, con 14 eventos en 29 casos. El subtipo Her2+/RE- presentó un período libre de enfermedad de 63 meses, con 12 eventos en 30 casos. El subtipo triple negativos presentó un período libre de enfermedad de 50 meses, con 25 eventos en 49 casos.

De manera notoria se encontraron diferencias en cuanto al sitio de recaídas, el subtipo luminal A mostró la menor frecuencia de enfermedad metastásica (71.2 % de los pacientes con este subtipo no presentaron recaída), y en los pacientes con recaída y este subtipo se observó, mayor afectación metastásica a hueso (14.4%) comparado con los subtipos triple negativo, óseas 7.5%, Her2neu/RE- , óseas 9.1 %; luminal B, óseas 6.5%. La afectación metastásica visceral fue más frecuente en el subtipo luminal B 29%, seguido del subtipo Her2+/RE- 24.2%, triple negativo 22.6% y el luminal A 11.2% ( $P=0.01$ ).

## Supervivencia por Subtipo IHQ

La duración media del seguimiento fue de 41.8 meses, mínimo de 1 y máximo de 178. La supervivencia global fue de 72.7 %. Los subtipos de cáncer de mama por IHQ también difieren significativamente en la supervivencia global de cáncer de mama ( $P=.188$ ). **Figura 5.** El subtipo luminal A presentó un tiempo medio de supervivencia de 111 meses, con 26 eventos en 125 casos y 79.2 % de supervivencia global. El subtipo luminal B presentó un tiempo medio de supervivencia de 88.8 meses, con 11 eventos en 31 casos y 74.5 % de supervivencia global. El triple negativo presentó un tiempo medio de supervivencia de 82 meses, con 19 eventos en 53 casos y 64 % de supervivencia global. El Her2neu/RE- presentó un tiempo medio de supervivencia de 80 meses, con 10 eventos en 33 casos y 69.7 % de supervivencia global. Las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier se presentan en la figura 2. Una recaída en la supervivencia se observó en los primeros 4-5 años para los subtipos luminal B, triple negativo y Her2+/RE-. La diferencia en supervivencia por subtipos de cáncer de mama fue vista entre las pacientes con ganglios linfáticos positivos y las pacientes con ganglios linfáticos negativos ( $P=.01$ ). Las pacientes con ganglios negativos tuvieron una supervivencia global de 84% contra un 66% de las pacientes con ganglios positivos. **Figura 6.**

## ANALISIS

El perfil de expresión genética ha identificado por microarreglos, subtipos intrínsecos de cáncer de mama que predicen diferentes resultados clínicos, <sup>7, 11,14</sup> los cuales se han encontrado presentes en múltiples razas.<sup>39</sup> El subtipo triple negativo se ha asociado con un pobre resultado clínico<sup>11,15</sup> los cuales reflejan la alta capacidad proliferativa<sup>14-15</sup> como también la falta de tratamientos dirigidos contra los tumores triples negativos, los cuales no expresan típicamente RE ni sobre expresan Her2neu.<sup>21</sup> Aunque en la literatura se ha refinado la identificación por inmunohistoquímica del subtipo de cáncer de mama tipo basal, inicialmente llamado triple negativo por su falta de expresión de RE, RP y Her2neu, en estos estudios la aplicación de citoqueratinas 5/6 y Her1 a este subgrupo lo han definido como positivos a al menos uno de ellos; <sup>21,35</sup> nuestro grupo de trabajo aplicando un panel de tres anticuerpos (RE, RP y Her2neu), los cuales en la actualidad se han aprobado para uso rutinario en el manejo del paciente con cáncer de mama,<sup>5</sup> además de considerar la aplicabilidad en la mayoría de laboratorios de patología convencionales en países en vías de desarrollo como América Latina, hemos realizado la clasificación por inmunohistoquímica de los subtipos de cáncer de mama de esta manera con únicamente estos tres marcadores. Se ha reportado que alrededor del 80% de los triple negativos serán de tipo basal, al refinar la determinación de este aplicando citoqueratinas 5/6 y Her1<sup>21</sup>.

Aunque los estudios basados en IHQ no proporcionan tanta información biológica tumoral como los estudios basados en ARNm que contienen miles de genes, este estudio a través de la aplicación de la IHQ permite la clasificación de tumores dentro de estratos que han demostrado asociación entre los subtipos intrínsecos y factores como el índice de proliferación celular, el estado de TP53, asociación con mutaciones del BRCA1 y con la supervivencia global.<sup>11, 15, 21, 40,41 ,42</sup>

La reproducibilidad en la correlación entre los diferentes estudios cuando se utilizan distintos ensayos (IHQ y perfil de expresión genética por microarreglos de ADN) muestran que se puede agrupar subtipos tumorales comunes con características biológicas similares y comportamientos clínicos diferentes entre grupos diversos de pacientes. El sistema de clasificación basado en IHQ nos permite analizar los subtipos en poblaciones de pacientes donde el tejido fresco no está al alcance, una condición necesaria para la realización de microarreglos.

En este estudio de mujeres mexicanas la prevalencia del subtipo luminal A fue similar entre las pre y posmenopáusicas; la más alta prevalencia de triple negativo y de luminal B se observó en



las pacientes premenopáusicas, curiosamente se encontró al subtipo Her2+/Re- con una mayor prevalencia en mujeres premenopáusicas. La evidencia en Estados Unidos muestra diferencias raciales y étnicas entre las mujeres norteamericanas respecto a la incidencia de cáncer de mama, se ha demostrado que para mujeres afro americanas e hispanas la incidencia está incrementada en la premenopausia.<sup>43</sup> Carey et. al demostraron diferencias en la prevalencia entre los subtipos por IHQ respecto a la raza, ellos encontraron la mas alta prevalencia para el tipo basal entre las mujeres premenopáusicas afro americanas (39%).<sup>23, 35</sup> En nuestra población de estudio demostramos una prevalencia del 27% en mujeres premenopáusicas para el triple negativo, esta prevalencia se encuentra en una situación intermedia si comparamos el grupo de mujeres caucásicas (16%) y afro americanas, estos hallazgos pueden reflejar diferentes exposiciones a factores de riesgos como factores genéticos o familiares, estado socioeconómico, factores dietéticos, obesidad, actividad física, entre otros los cuales requieren de estudios epidemiológicos prospectivos para su confirmación.

Un hallazgo interesante fue que en nuestra población de estudio encontramos una prevalencia mas alta del subtipo Her2+/RE- en mujeres posmenopáusicas (19% vs. 9%). Lo cual puede inferir diferencias raciales o étnicas respecto a la sobre expresión y/o amplificación de Her2neu. Carey et al no encontraron diferencias en cuanto a este subtipo Her2+/RE- respecto a la raza y la edad.<sup>23, 35</sup> Aunque la sobre expresión o amplificación de Her2 se ha demostrado hasta en el 20 a 30% de los canceres de mama, este se ha relacionado mas frecuentemente a mujeres jóvenes y con una relación inversa en cuanto a la expresión de receptores hormonales (RP, RE). La sobre expresión de Her2 está ligada a una menor supervivencia, resistencia a hormonoterapia así como a mejores resultados con quimioterapia basada en antraciclinas.<sup>44</sup> Estas diferencias en nuestra población de estudio se deben tomar con precaución debido a la naturaleza retrospectiva del estudio por un lado, y por otra parte la solicitud del Her2 por inmunohistoquímica se realizó buscando opciones terapéuticas mas que pronósticas en las pacientes, se requiere reproducir estos hallazgos en estudios prospectivos.

El subtipo luminal B (RE y/o RP+ / Her2neu+) fue mas prevalente en mujeres jóvenes con hallazgos que difieren a lo reportado en otros estudios<sup>23,35</sup> en los que este subtipo es mas frecuente en mujeres posmenopáusicas; como mencionamos anteriormente la sobre expresión de Her2neu tiene implicaciones pronósticas y terapéuticas que pueden contribuir al pobre resultado de los tratamientos en mujeres jóvenes. La sobre expresión por IHQ del Her2neu en nuestro estudio fue similar para mujeres pre y posmenopáusicas (datos no mostrados), sin embargo por los criterios de clasificación de los subtipos se distinguió una mayor prevalencia del subtipo luminal B (relacionado a RE y/o RP+) en premenopáusicas con una relación inversa al

subtipo Her2+ (RE y/o RP-) respecto a la prevalencia en mujeres posmenopáusicas. Estos datos pueden tener importancia no solo pronóstica en las mujeres según la relación del estado menopáusico y la expresión de los receptores hormonales y Her2neu, por ejemplo se ha descrito que la resistencia a tamoxifén esta vinculada a la sobre expresión del Her2neu<sup>45</sup> y por otro lado se podrían intentar utilizar como una opción terapéutica los inhibidores de aromatasa en este subgrupo de pacientes premenopáusicas con subtipo luminal B o una mayor proporción del uso del anticuerpo monoclonal trastuzumab en mujeres posmenopáusicas con el subtipo Her2+/RE-. Las respuestas patológicas completas (RPC) fueron del 19.4 % de manera global con una mayor frecuencia de RPC para los subtipos Her2+/RE- (37%) y el triple negativo (23%) vs. los tumores RE y/o RP+ (luminal A y B, 15% para cada uno), estos datos se encuentran en correspondencia con lo reportado respecto a las RPC con los tratamientos de inducción o neoadyuvantes las cuales son mas altas para los tumores RE negativos por IHQ.<sup>24</sup> Rouzier et al reportaron 45% de RPC en tumores RE- (tipo basal y Her2+) identificados por microarreglos.<sup>25</sup> Debemos considerar sin embargo que obtuvimos una mayor proporción de RPC en tumores RE y/o RP+ que lo reportado en la literatura en donde las respuestas son menores al 10%,<sup>24,25</sup> quizás esta mayor frecuencia de RPC fueron influenciadas por el alto uso de la radioterapia neoadyuvante (utilizada en el 41% de los casos). Hasta nuestro conocimiento este es el primer estudio que relaciona los tratamientos según los subtipos identificados por IHQ.

En cuanto al patrón de recaídas como enfermedad metastásica es diferente entre los subtipos moleculares por IHQ. Las recaídas óseas fueron mas frecuentes entre los tumores luminal A contrario a una mayor proporción de metástasis viscerales en el resto de los subtipos, datos que apoyan lo reportado previamente en cuanto a un mayor período libre de progresión y mejores resultados terapéuticos en las pacientes con enfermedad metastásica ósea, los cuales son mas frecuentemente RE positivos. Se han identificado una serie de genes que codifican proteínas involucradas en la adherencia celular (como TFF1 y TFF3) y otros que participan en las vías de señalización celular (FGFR-MAPK) los cuales están expresados mas frecuentemente en tumores de mama que metastatizan a hueso, en estos pacientes se ha sugerido el uso de bifosfonatos.<sup>46</sup> En un estudio acerca de la expresión de Her1 en el subtipo triple negativo se encontró que éste tiene una alta expresión de Her1 (64%) y se ha sugerido la utilización de tratamientos dirigidos contra este blanco en este subtipo de tumor con el agente Bevacuzimab<sup>38</sup> también se ha sugerido que este subtipo triple negativo aunado a su pobre pronóstico que tiene un patrón de diseminación hematogena mas que linfática en asociación con los reportes de una menor afectación a los ganglios linfáticos axilares.<sup>32,35</sup>

Al examinar los datos de microarreglos en tumores de pacientes tratados únicamente con cirugía se sugiere que estos subtipos son pronósticos y reflejan la historia natural de estos tumores.<sup>7</sup>

En nuestro estudio confirmamos los hallazgos de que los subtipos de cáncer de mama tienen diferentes pronósticos, la supervivencia global y el período libre de enfermedad fue diferente entre los subtipos, con resultados más favorables para el subtipo luminal A y un peor pronóstico para los subtipos triple negativo y Her2+/RE- este último asociado más frecuentemente con alto grado.

Acorde a los estudios de expresión genética los tumores de mama RE negativos caen dentro de una de dos categorías,<sup>11,15</sup> los llamados tumores tipo basal (RE-, RP- y HER-) y el grupo Her2neu/RE- el cual es también un subtipo RE negativo y asociado a alto grado identificado más frecuentemente en posmenopáusicas en nuestro estudio.

Los cánceres de mama triple negativos muestran cuadros agresivos dentro de las que se incluyen alto grado histológico. Aun después de ajustar la edad y el estadio, la asociación de los subtipos triple negativo y Her2neu/RE- mantiene un significativo perfil agresivo. Estos hallazgos fueron esperados dada la alta expresión de grupos de genes de proliferación celular en análisis realizados por microarreglos para los subtipos tumorales triple negativo y Her2neu/RE-.<sup>7-18,21</sup> Nosotros observamos diferencias en el pronóstico entre los subtipos del cáncer de mama que han sido confirmados en otros estudios.<sup>5,6,20,21</sup> La supervivencia global fue significativamente más baja entre los casos de cáncer con subtipos triple negativo y Her2neu/RE-. Y se mostraron resultados más favorables entre los casos luminal A. El subtipo Her2neu/RE- tiene la tendencia a recaídas tempranas y más frecuentes correspondiendo con la experiencia clínica previa en tumores con sobre expresión o amplificación del Her2-neu.<sup>28-31</sup>

En este estudio solo dos pacientes con sobre expresión de Her2neu fueron tratadas con el anticuerpo monoclonal dirigido contra Her2neu (trastuzumab) debido al tiempo en el que se incluyeron los pacientes y los altos costos del mismo.

Los tumores triple negativo fueron más frecuentes entre las mujeres premenopáusicas, este subtipo puede contribuir al pobre pronóstico en esta población de pacientes comparados con el resto de pacientes de cáncer de mama; sin embargo esto también puede reflejar el impacto sobre el pronóstico respecto a la relación con el acceso tardío a los cuidados de la salud, a los tratamientos, u otras diferencias no detectadas, aun cuando los estadios clínicos se distribuyeron de manera similar entre los diferentes subgrupos, se evidenció una diferencia en el período libre de enfermedad y en la supervivencia global. En otras palabras la alta incidencia de subtipos de pobre pronóstico contribuye relativamente a los pobres resultados en las mujeres Mexicanas.

Dado que la población mexicana es heterogénea quizá represente al resto de la población de mujeres en América Latina, sin embargo la población atendida en el Instituto Nacional de Cancerología de México generalmente son de un bajo nivel socioeconómico, con menor escolaridad, por no ser derechohabientes de seguro de gastos médicos y ser un centro de atención terciaria de referencia nacional, es posible que estos factores puedan sobreestimar o subestimar la prevalencia de los subtipos identificados por IHQ sobretodo los de comportamiento biológico mas agresivo (triple negativo y Her2neu+/RE-) entre las mujeres mexicanas. Por ello se necesitan futuros estudios para corroborar estos hallazgos. También son necesarios estudios respecto a la prevalencia de subtipos por IHQ en poblaciones latinas y es importante compararlas con el estadio clínico al diagnóstico, la relación con los subtipos histológicos y reportar los resultados con respecto a tratamientos homogéneos. También se hace meritoria la búsqueda de mujeres portadoras de mutaciones de BRCA1 en la población mexicana con cáncer de mama para estimar la relación con los subtipos por IHQ principalmente el subtipo triple negativo, este se ha demostrado como el subtipo mas frecuente en mujeres portadoras de mutación del BRCA1 y cáncer de mama.

## Bibliografía

1. Gradishar WJ. The future of breast cancer: the role of prognostic factors. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 89(S17-S26).
2. Boyle P. Breast cancer control: signs of progress, but more work required. *Breast* 2005; 14: 429–38.
3. Secretaría de Salud / Dir. Gral. de Epidemiología / Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas / 2002. <http://www.dgepi.salud.gob.mx>
4. Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, and Senn H. Meeting Highlights: International Consensus Panel on the Treatment of Primary Breast. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1601-8.
5. Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn H. and Panel Members. Meeting Highlights: International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2005. *Ann Oncol* 2005; 16:1569-1583.
6. Cleator S, Ashworth A. Molecular profiling of breast cancer: clinical implications. *Br J Cancer* 2004; 90:1120-4.
7. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffreyk SS, Christian A. Rees CA et al: Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406:747-52.
8. Perou CM, Jeffrey SS, van de Rijn M, Rees CA, Eisen MB, Ross DT, et al. Distinctive gene expression patterns in human mammary epithelial cells and breast cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96:9212–7.
9. Brenton JD, Carey LD, Ahmed AA and Caldas C. Molecular Classification and Molecular Forecasting of Breast Cancer: Ready for Clinical Application? *J Clin Oncol* 2005; 23:7350-60.
10. van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, Yudong DH, Hart AA, Mao M, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002; 415:530-6.
11. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003 ;100: 8418-23.
12. Simpson PT, Reis-Filho JS, Gale T and Lakhani SR. Molecular evolution of breast cancer. *J Pathol* 2005; 205:248-54.
13. Mauriac L, Debled M and MacGrogan G. When will more useful predictive factors be ready for use? *Breast* 2005; 14: 617–23.

14. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98:10869-74.
15. 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 U S A* 2003; 100:10393-8.
16. Weigelt B, Glas AM, Wessels LFA, Witteveen AT, Peterse JL, van't Veer LJ. Gene expression profiles of primary breast tumors maintained in distant metastases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:15901-5.
17. Weigelt B, Hu Z, He X, Livasy C, Carey LA, Ewend MG, et al. Molecular Portraits and 70-Gene Prognosis Signature Are Preserved throughout the Metastatic Process of Breast Cancer. *Cancer Res* 2005; 65:9155-8.
18. 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;12:27-34.
19. Abd El-Rehim DM, Pinder SE, Paish CE, Bell J, Blamey RW, Robertson JF, et al. Expression of luminal and basal cytokeratins in human breast carcinoma. *J Pathol.* 2004; 203:661-71.
20. 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; 65:767-79.
21. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10:5367-74.
22. Eden P, Ritz C, Rose C, Fernon M, Peterson C. "Good Old"clinical markers have similar power in breast cancer prognosis as microarray gene expresión profilers. *Eur J Cancer* 2004; 40:1837-41.
23. Carey LA, Perou CM, Dressler LG, Livasy CA, Geradts J, Cowan D, et al. Race and the poor prognosis basal-like breast cancer (BBC) phenotype in the population-based Carolina Breast Cancer Study. *J Clin Oncol* 2004 (suppl; abstr 9510).
24. Ring AE, Smith IE, Ashley S, Fulford LG, Lakhani SR. Oestrogen receptor status, pathological complete response and prognosis in patients receiving neoadjuvant chemotherapy for early breast cancer. *Br J Cancer* 2004; 91:2012-7.

25. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, et al. Breast Cancer Molecular Subtypes Respond Differently to Preoperative Chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 5678-85.
26. Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2004; 351:2817-26.
27. Miller KD, Burstein HJ, Elias A, Rugo HS, Cobleigh MA, Pegram MD, et al. Phase II study of SU11248, a multitargeted receptor tyrosine kinase inhibitor (TKI), in patients (pts) with previously treated metastatic breast cancer (MBC). *J Clin Oncol* 2005 (suppl; abstr 563).
28. Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer CE Jr, Davidson NE, et al. Trastuzumab plus Adjuvant Chemotherapy for Operable HER2-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med* 2005; 353:1673-84.
29. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I, et al. Trastuzumab after Adjuvant Chemotherapy in HER2-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med* 2005; 353:1659-72.
30. Nagata Y, Lan K-H, Zhou X, Tan M, Esteva FJ, Sahin AA, et al. PTEN activation contributes to tumor inhibition by trastuzumab, and loss of PTEN predicts trastuzumab resistance in patients. *Cancer Cell* 2004; 6:117-27.
31. Tripathy D, Hassan S, Verma U, Gurnani P, Nandi A, and Rosenblatt K. Phenotypic and proteomic alterations of acquired trastuzumab resistance. *J Clin Oncol* 2005 (suppl; abstr 3121).
32. Foulkes WD, Brunet JS, Stefansson IM, Straume O, Chappuis PO, Bejin LR, et al. The Prognostic Implication of the Basal-Like (Cyclin E<sup>high</sup>/p27<sup>low</sup>/p53<sup>+</sup>/Glomeruloid-Microvascular-Proliferation<sup>+</sup>) Phenotype of BRCA1-Related Breast Cancer. *Cancer Res* 2004; 64:830-5.
33. Ribeiro-Silva A, Ramalho LN, Garcia SB, Brandao DF, Chahud S, Zucoloto S. p63 correlates with both BRCA1 and cytokeratin 5 in invasive breast carcinomas: further evidence for the pathogenesis of the basal phenotype of breast cancer. *Histopathology* 2005;47: 458-66.
34. Goffin JR, Straume O, Chappuis PO, Brunet JS, Begin LR, Hamel N, et al. Glomeruloid microvascular proliferation is associated with p53 expression, germline BRCA1 mutations and an adverse outcome following breast cancer. *Br J Cancer* 2003; 89:1031-4.

35. 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; 295:2492-502.
36. Li C, Malone K and Daling J. Differences in Breast Cancer Hormone Receptor Status and Histology by Race and Ethnicity among Women 50 Years of Age and Older. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002; 11:601-7.
37. Chlebowski R, Chen Z., Anderson G, Rohan T, Aragaki A, Lane D et al. Ethnicity and Breast Cancer: Factors Influencing Differences in Incidence and Outcome. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97:439-48.
38. Siziopikou KP, Ariga R, Prousaloglou KE, Forbes D, Valadez C, Gatusso P et al. The challenging estrogen receptor-negative/ progesterone receptor-negative/HER-2-negative patient: a promising candidate for epidermal growth factor receptor-targeted therapy? *Breast J*. 2006; 12:360-2.
39. Yu K, Lee CH, Tan PH, Tan P. Conservation of breast cancer molecular subtypes and transcriptional patterns of tumor progression across distinct ethnic populations. *Clin Cancer Res*. 2004;10:5508-5517.
40. van de Rijn M, Perou CM, Tibshirani R, et al. Expression of cytokeratins 17 and 5 identifies a group of breast carcinomas with poor clinical outcome. *Am J Pathol*. 2002; 161:1991-1996.
41. Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO, et al. Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2003; 95:1482-1485.
42. Olopade OI, Grushko T. Gene-expression profiles in hereditary breast cancer. *N Engl J Med*. 2001; 344:2028-2029.
43. Joslyn SA, Foote ML, Nasser K, Coughling SS, Howe HL. Racial and ethnic disparities in breast cancer rates by age: NAACCR Breast Cancer Project. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 92:97-105.
44. Konecny G, Pauletti G, Pegram M. et al. Quantitative Association Between HER-2/neu and Steroid Hormone Receptors in Hormone Receptor Positive Primary Breast Cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2003; 95:142-153
45. Grazia A, Weiss H, Lee A, et al. Estrogen Receptor-Positive, Progesterone Receptor-Negative Breast Cancer: Association With Growth Factor Receptor Expression and Tamoxifen Resistance. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1254-1261
46. Smid M, Wang Y, Klijn J, et al. Genes Associated With Breast Cancer Metastatic to Bone. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2261-2267.
47. Jay R. Harris, *Diseases of the Breast* 2nd ed. LWW, Philadelphia 2000. 471-514.



48. Platet N, Cathiard A, Gleizes M and Garcia M. Estrogens and their receptors in breast cancer progression: a dual role in cancer proliferation and invasion. *Crit Rev Oncol/Hematol* 2004; 51: 55–67.
49. Mohsin S, Weiss H, Havighurst T, Clark G, Berardo M, Roanh L et al. Progesterone receptor by immunohistochemistry and clinical outcome in breast cancer: a validation study *Mod Pathol* 2004;17:545–54.
50. Arpino G, Weiss H, Lee A, Schiff R, De Placido S, Osborne K et al. Estrogen Receptor – Positive, Progesterone Receptor – Negative Breast Cancer: Association With Growth Factor Receptor Expression and Tamoxifen Resistance. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:1254 – 61.
51. Witton CJ, Reeves JR, Going JJ, Cooke TG and Barlett JM. Expression of the HER1-4 family of receptor tyrosine kinases in breast cancer. *J Pathol* 2003;200:290-7.

## Anexos

**TABLA 2. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES Y CLASIFICACIÓN DE LOS SUBTIPOS POR INMUNOHISTOQUÍMICA**

CLASIFICACIÓN	Total de Casos (N=242)	Triple Negativo (n=53)	No. (%) HER2+/RE- (n=33)	Luminal A (n=125)	Luminal B (n=31)	Valor de P*
Edad, media (DE)	48.6(11.7)	47.2 (11.8)	50.8(11.3)	49.6(11.8)	44.7(10.6)	<b>0.102</b>
Antecedentes Heredo Familiares						
No	209(86.4)	41(77.4)	31(93.9)	109(87.2)	28(90.3)	<b>0.149</b>
Si	33(13.6)	12(22.6)	2(6.1)	16(12.8)	3(9.7)	
Estado de la menopausia						
Premenopáusicas	124(51.2)	33(62.3)	11(33.3)	61(48.8)	19(61.3)	<b>0.039</b>
Posmenopáusicas	118(48.8)	20(37.7)	22(66.7)	64(51.2)	12(38.7)	
Estadio según AJCC						
I	24(9.9)	7(13.2)	3(9.1)	12(9.6)	2(6.5)	<b>0.813‡</b>
II	114(47.1)	24(45.3)	13(39.4)	65(52)	12(38.7)	
III	88(36.4)	19(35.8)	14(42.4)	40(32)	15(48.4)	
IV	16(6.6)	3(5.7)	3(9.1)	8(6.4)	2(6.5)	
Sitio de Metástasis al Dx						
Óseas	8(3.3)	1(1.9)	0	6(4.8)	1(3.2)	<b>0.713‡</b>
Viscerales	234(96.7)	52(98.1)	33(100)	119(95.2)	30(96.8)	
Ganglios Axilares Clínicos						
Ganglios Negativos al diagnóstico	74(30.6)	16(30.2)	11(33.3)	41(32.8)	6(19.4)	<b>0.522</b>
Ganglios Positivos al diagnóstico	168(69.4)	37(69.8)	22(66.7)	84(67.2)	25(80.6)	
Ganglios afectados/disecados						
0	83(37.2)	21(41.2)	11(36.7)	37(32.5)	14(50)	<b>0.038‡</b>
0.1-0.25	60(26.9)	15(29.4)	8(26.7)	32(28.1)	5(17.9)	
0.26-0.5	38(17)	9(17.6)	1(3.3)	27(23.7)	1(3.6)	
0.51-0.75	13(5.8)	1(2)	4(13.3)	6(5.3)	2(7.1)	
0.76-1	29(13)	5(9.8)	6(20)	12(10.5)	6(21.4)	
No.de ganglios axilares media ( DE)	4.3 (.4)	4 (.9)	5.3(1.3)	3.8(.5)	5.3(1.7)	<b>0.006</b>
Tipos Histológicos						
Ductal	198(81.8)	47(88.7)	28(84)	98(74.8)	25(80.6)	<b>0.325‡</b>
Lobuililar	18(7.4 )	3(5.7 )	1(3)	12(9.6)	2(6.5)	
Mixtos	24(9.9)	2(3.8)	3(9.1)	15(12)	4(12.9)	
Otros	2(0.8)	1(1.9)	1(3)	0	0	
Grado Histológico						
Grado Bajo/Intermedio	109(51.9)	20(44.4)	10(32.3)	65(60.2)	14(53.8)	<b>0.032</b>
Alto Grado	101(48.1)	25(55.6)	21(67.7)	43(39.8)	12(46.2)	
Presencia de Necrosis						
Si	68(28.2)	11(20.8)	15(45.5)	29(23.4)	13(41.9)	<b>0.014</b>
No	173(71.8)	42(79.2)	18(54.5)	95(76.6)	18(58.1)	
Estado RE						
Positivo	98 (40.5)	0	0	84 (67.2)	14 (45.2)	<b>&lt;0.001</b>
Negativo	144 (59.5)	53 (100)	33 (100)	41 (32.8)	17 (54.8)	
Estado RP						
Positivo	149 (61.6)	0	0	120 (96)	29 (93.5)	<b>&lt;0.001</b>
Negativo	93 (38.4)	53 (100)	33 (100)	5 (4)	2 (6.5)	
Estado de la combinación						
RE-RP-	86 (35.5)	53 (100)	33 (100)	0	0	<b>&lt;0.001</b>
RE+/RP-	6 (2.5)	0	0	4 (3.2)	2 (6.5)	
RE+/RP+	92 (38)	0	0	80 (64)	12 (38.7)	
RE-/RP+	58 (24)	0	0	41 (32.8)	17 (54.8)	
HER2 Inmunohistoquímica						
Positivo	64(26.4)	0	33(100)	0	31(100)	<b>&lt;0.001</b>
Negativo	178(73.6)	53(100)	0	125(100)	0	
Permeación vascular y linfática						
Si	84(34.7)	19(35.8)	12(36.4)	38(30.4)	15(48.4)	<b>0.301</b>
No	158(65.3)	34(64.2)	21(63.6)	87(69.6)	16(51.6)	

**TABLA 2. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES Y CLASIFICACIÓN DE LOS SUBTIPOS POR INMUNOHISTOQUÍMICA (CONTINUACIÓN)**

CLASIFICACIÓN	Total de Casos (N=242)	Triple Negativo (n=53)	No. (%)			Valor de P
			HER2+/R E- (n=33)	Luminal A (n=125)	Luminal B (n=31)	
Cirugía del Primario						
Ninguna	19(19.7)	2(3.8)	3(9.1)	11(8.8)	3(9.7)	<b>0.696‡</b>
CCM	17(7)	4(7.5)	4(12.1)	8(6.4)	1(3.2)	
MR	206(85.1)	47(88.7)	26(78.8)	106(84.8)	27(87.1)	
Cirugía Axilar						
Ninguna	20(8.3)	2(3.8)	3(9.1)	12(9.6)	3(9.7)	<b>0.859‡</b>
GC	8(3.3)	2(3.8)	0	5(4)	1(3.2)	
GC+DRA	4(1.7)	2(3.8)	0	2(1.6)	0	
DRA	210(86.8)	47(87)	30(90.9)	106(84.8)	27(87.1)	
Quimioterapia Neoadyuvante						
No	93(38.4)	19(35.8)	15(45.5)	49(39.2)	10(32.3)	<b>0.713</b>
Si	149(61.6)	34(64.2)	18(54.5)	76(60.8)	21(67.7)	
Radioterapia Neoadyuvante						
No	142(58.7)	33(62.3)	20(60.6)	75(60)	14(45.2)	<b>0.431</b>
Si	100(41.3)	20(37.7)	13(39.4)	50(40)	17(54.8)	
Respuesta Patológica a Tratamiento Neoadyuvante						
Enfermedad Residual	115(80.4)	27(77.1)	10(62.5)	62(84.9)	16(84.2)	<b>0.2‡</b>
Respuesta Completa	28(19.6)	8(22.9)	6(37.5)	11(15.1)	3(15.8)	
Quimioterapia Adyuvante						
No	60(24.8)	8(15.1)	9(27.3)	39(31.2)	4(12.9)	<b>0.048</b>
Si	182(75.2)	45(84.9)	24(72.7)	86(68.8)	27(87.1)	
Radioterapia Adyuvante						
No	160(66.1)	34(64.2)	18(54.5)	84(67.2)	24(77.4)	<b>0.273</b>
Si	82(33.9)	19(35.8)	15(45.5)	41(32.8)	7(22.6)	
Quimioterapia Paliativa						
No	13(15.1)	2(7.7)	2(14.3)	4(12.9)	5(33.3)	<b>0.184‡</b>
Si	73(84.9)	24(92.3)	12(85.7)	27(87.1)	10(66.7)	
Hormonoterapia Paliativa						
No	55(64)	21(84)	13(92.9)	13(40.6)	8(53.3)	<b>0.001</b>
Si	13(36)	4(16)	1(7.1)	19(59.4)	7(46.7)	
Metástasis al 1er Sitio						
Ninguna	154(63.6)	30(56.6)	19(57.6)	89(71.2)	16(51.6)	<b>0.015‡</b>
Óseas	27(11.2)	4(7.5)	3(9.1)	18(14.4)	2(6.5)	
Viscerales	43(17.8)	12(22.6)	8(24.2)	14(11.2)	9(29)	
Otras	18(7.4)	7(13.2)	3(9.1)	4(3.2)	4(12.9)	

Abreviaturas: AJCC American Joint Committee on Cancer, RE receptor de estrógeno, HER2 Receptor del factor del crecimiento epidérmico humano, RP receptor de progesterona, CCM cirugía conservadora, MR mastectomía radical, GC ganglio centinela, DRA disección radical de axila.

\*Comparación de 4 grupos (triple negativo, HER2+RE, luminal A, luminal B, usando el análisis de la prueba de varianza para diferencias en las medias (ANOVA), y la prueba de  $\chi^2$  o Exacta de Fisher para el resto de características.

‡Exacta de Fisher

**Tabla 3. Prevalencia de subtipos moleculares por IHQ**

Clasificación molecular por IHQ	Total de Casos	Premenopáusicas (n=124)	Posmenopáusicas (n=118)
	No.	No. %	No. %
Triple Negativo	53	33 (27)	20 (17)
HER2+/RE-	33	11 (9)	22 (19)
Luminal A	125	61 (49)	64 (54)
Luminal B	31	19 (15)	12 (10)

\*P=.048, valor de  $\chi^2$  para tumores de tipo triple negativos vs. otros tipos de tumores en premenopáusicas vs. posmenopáusicas, P=.021 para tumores tipo HER2+/RE- vs. otros tipos de tumores, P=.231 para luminal B vs otros, P=.433 para el luminal A vs otros.

**Figura 4.**

**Curvas de PLE y Subtipos por IHQ**

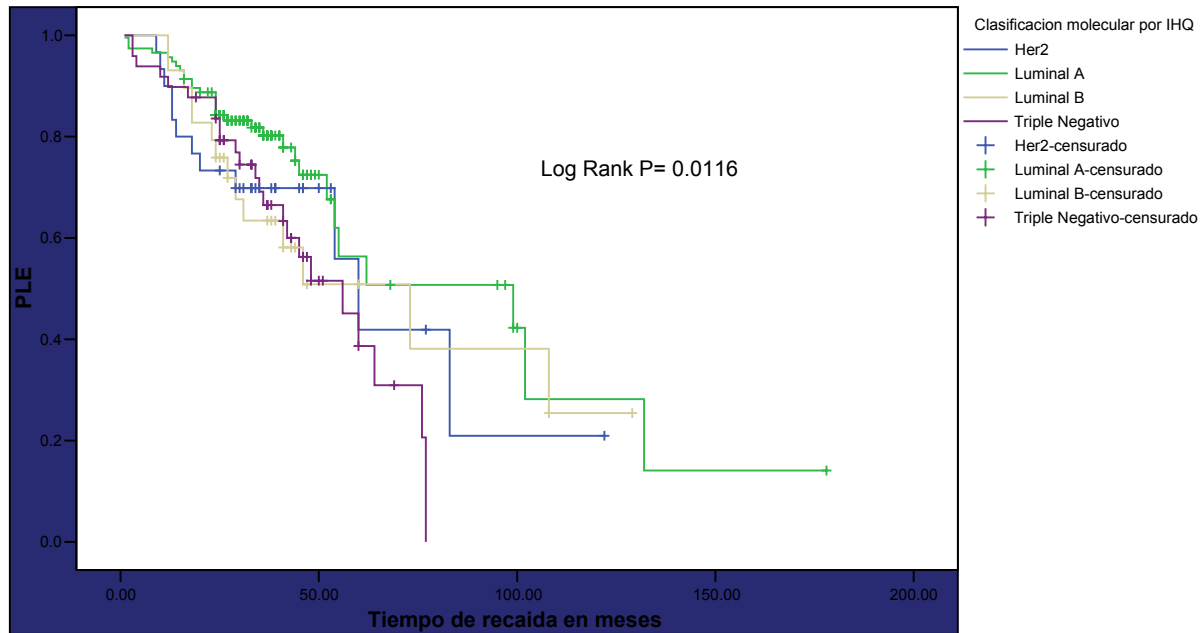


Figura 5.

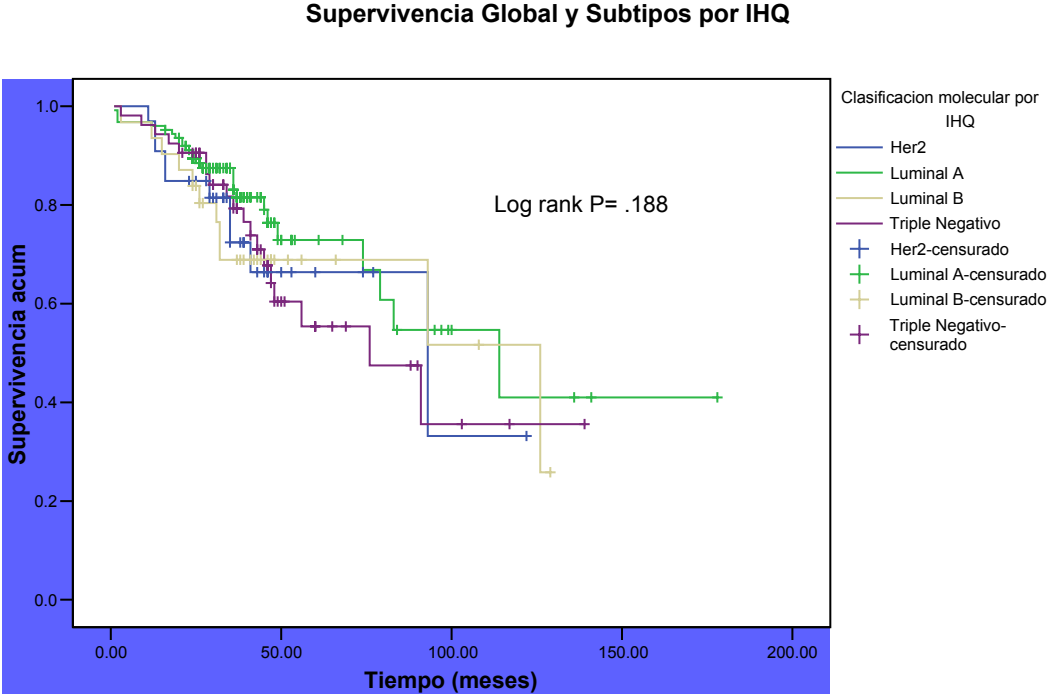


Figura 6.

Supervivencia Global y Ganglios Axilares Patológicos

