



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
ESPECIALIDAD EN ANATOMÍA PATOLÓGICA

“CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CARCINOMA DE MAMA BASADO EN
ESTUDIOS DE INMUNOHISTOQUÍMICA EN MUJERES
DERECHOHABIENTES DEL HRALM”

TITULACIÓN OPORTUNA
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
ESPECIALIDAD EN ANATOMÍA PATOLÓGICA

PRESENTA:
DR. JORGE GARCÍA ALEMÁN

TUTOR PRINCIPAL:
DR. CARLOS SÁNCHEZ LARA
HOSPITAL REGIONAL LIC. ADOLFO LÓPEZ MATEOS ISSSTE

MÉXICO D.F. NOVIEMBRE 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

DR. DANIEL ANTONIO RODRÍGUEZ ARAIZA
COORDINADOR DE ENSEÑANZA MÉDICA E INVESTIGACIÓN

DR. GUILBALDO PATIÑO CARRANZA
JEFE DE ENSEÑANZA MÉDICA

DRA. MARTHA EUNICE RODRÍGUEZ ARELLANO
JEFE DE INVESTIGACIÓN

DR. FERNANDO E. DE LA TORRE RENDÓN
PROFESOR TITULAR
JEFE DE PATOLOGÍA QUIRÚRGICA

DR. CARLOS SÁNCHEZ LARA
ASESOR DE TESI

RESUMEN

A nivel internacional una de cada ocho mujeres tiene o va a desarrollar el cáncer de mama en el lapso de su vida, es decir, que el 12 % de la población femenina actual en el mundo va a presentar esta enfermedad.

Los carcinomas de mama representan un grupo heterogéneo de tumores, tanto en su comportamiento clínico como pronóstico. El objetivo del presente trabajo es clasificar los carcinomas de mama en subtipos moleculares mediante marcadores inmunohistoquímicos y analizar las características histopatológicas e inmunohistoquímicas que predecirán los patrones de respuesta a tratamiento, supervivencia y recaída de los distintos subtipos.

Para la realización de este estudio se tomaron casos de carcinoma de mama invasor durante el periodo de 2013 y 2014, analizando a 162 casos el perfil inmunohistoquímico, comprendido por Receptores de Estrógeno, Receptores de Progesterona y Her-2, clasificándolos en patrones moleculares Luminal A, Luminal B, Basal, y Her-2.

Este sistema de clasificación ha sido desarrollado y mejorado durante los últimos años y proporciona información pronóstica útil, con la ventaja de su bajo costo, sin embargo presenta varios inconvenientes en la actualidad debido a la existencia de terapias blanco disponibles. En primer lugar, no hay diferencia en tiempo libre de enfermedad y la supervivencia global entre carcinoma ductal y lobulillar. En segundo lugar, los investigadores han utilizado diferentes criterios para definir tumores de subtipo especial y la mayoría de los criterios son arbitrarios. Por último, pero no menos importante, la parte más importante de la clasificación molecular es determinar que pacientes son candidatos a terapia endócrina o anticuerpos monoclonales.

Todos estos factores, más el deseo de identificar nuevos factores pronósticos y predictivos y la disponibilidad de arreglos de expresión genética impulsaron la nueva clasificación molecular del carcinoma de mama.

SUMMARY

Worldwide, one of 8 women has or will develop breast cancer through her life, in other words, 12% of female population in the world will present this disease.

Breast carcinomas represent an heterogeneous group of tumors, both in their clinical behavior and prognosis. The aim of this study is to classify breast carcinomas using immunohistochemical markers in molecular subtypes and analyze the histopathological and immunohistochemical characteristics that predict patterns of treatment response, relapse and survival of different subtypes.

To carry out this study, cases of invasive breast carcinoma were taken during the period of 2013 and 2014, analyzing 162 cases immunohistochemical profile, comprised of Estrogen Receptor, Progesterone Receptor and HER-2, classifying molecular patterns Luminal A , Luminal B, Basal, and Her-2.

This classification system has been developed and improved over the years and provides useful prognostic information, with the advantage of its low cost, but has several drawbacks at present due to the existence of targeted therapies available. First, there is no difference in disease-free and overall survival between ductal and lobular carcinoma. Second, the researchers have used different criteria to define special subtype tumors and most of the criteria are arbitrary. Last but not least, the most important part of the molecular classification is to determine which patients are candidates for endocrine therapy, or monoclonal antibodies.

All these factors, plus the desire to identify new prognostic and predictive factors and the availability of gene expression arrays boosted this new molecular classification of breast carcinoma.

AGRADECIMIENTOS

A mi padre por su gran ejemplo de fortaleza, perseverancia, comprensión y amor que me ha brindado a lo largo de toda mi vida.

A mi madre quien a través de su apoyo constante, su gran cariño y amor he podido aprender del camino que he trazado.

A mi hermano por su luz y alegría que ilumina mi vida.

A todos mis maestros de la especialidad que tuvieron la paciencia y compromiso de formarme como especialista, y como un ser un mejor humano.

A los histotecnólogos y secretarias, ya que sin ellos no sería posible la realización de este trabajo y nuestras labores diarias.

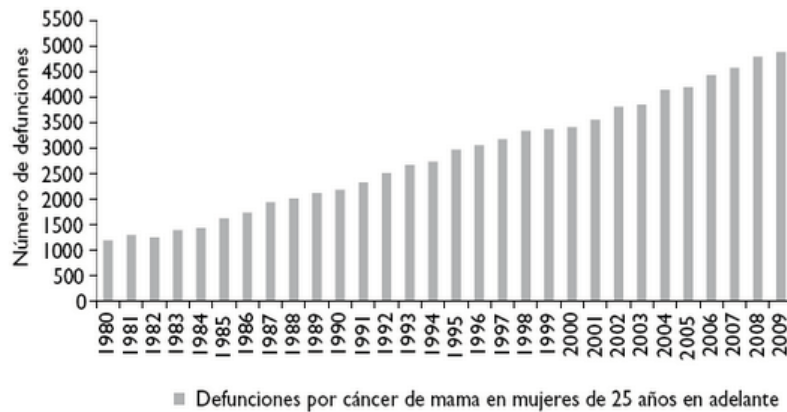
A mi tutor y asesor de tesis por todo su apoyo.

INDICE

Antecedentes	7
Planteamiento del problema	23
Justificación	24
Hipótesis	25
Objetivos	26
Material y métodos	27
Resultados	32
Discusión	43
Conclusiones	46
Referencias bibliográficas	47
Anexos	50

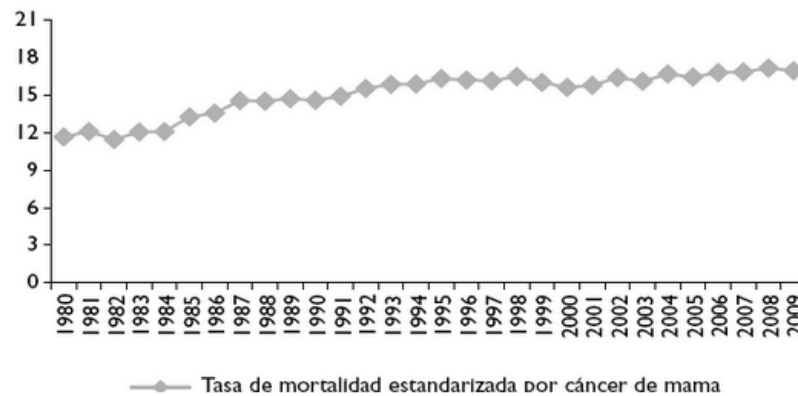
ANTECEDENTES

A nivel internacional una de cada ocho mujeres tiene o va a desarrollar el cáncer de mama en el lapso de su vida, es decir, que el 12 % de la población femenina actual en el mundo va a presentar esta enfermedad. Cada año se reporta un millón de nuevos casos, de los cuales aproximadamente la mitad ocurren en los países desarrollados y es en éstos donde se registran la mayoría de las muertes por esta causa. En México los registros epidemiológicos muestran que el número de casos nuevos reportados de cáncer de mama va en aumento, así como la tasa de mortalidad por esta causa. A partir del 2006 ocupa el primer lugar como causa de muerte por neoplasia maligna en las mujeres mayores de 25 años y es un grave problema de salud pública en nuestro país, con más de 4000 defunciones registradas y una tasa de mortalidad de 15.8 fallecimientos por cien mil mujeres, lo que representa un incremento de 9.7% en relación con el año 2000. Las defunciones en números absolutos, continúan en ascenso. En seis años han aumentado 28.5%, al pasar de 3455 en el año 2000, a 4461 en 2006.(1)



Fuente: Cálculos propios con base en las proyecciones de población de CONAPO, 1980-2030 y en la Base de datos de defunciones, 1979-2009, SINAIIS

Figura 1. Número de defunciones por cáncer de mama en México, 1980-2009



Tasa por 100 000 mujeres de 25 años en adelante

Fuente: Cálculos propios con base en las proyecciones de población de CONAPO, 1980-2030 y en la Base de datos de defunciones, 1979-2009, SINAIIS

Figura 2. Tasas de mortalidad estandarizadas por cáncer de mama en México, 1980-2009

TIPOS DE CANCER DE MAMA

En la anatomía normal de la mama existen dos estructuras primordiales: los conductos o ductos y los lobulillos. La mayoría de los carcinomas se localizan en los conductos, y más específicamente en la unidad terminal ducto-lobulillar. Existen dos tipos de carcinomas: los invasores y los no invasores o *in situ*. Los primeros son aquellos que en su crecimiento superan la membrana basal de la estructura en la que se encuentran y se expanden a los tejidos circundantes. Los carcinomas *in situ* nunca superan las paredes del sitio donde se desarrollan aún teniendo un tamaño considerable. (2)

Algunos autores plantean que gran parte de los tumores de mama comienzan siendo una alteración de las células llamada hiperplasia típica que es una lesión benigna, posteriormente podrían transformarse en una hiperplasia atípica que aún siendo una lesión benigna y premaligna, puede evolucionar a un carcinoma *in situ* o invasor.

Se reconoce hoy en día que el 77 % de los carcinomas *in situ* son tumores palpables, mientras que el resto (23 %) son detectados por la presencia de calcificaciones en la mamografía o como hallazgo incidental.

En los carcinomas *in situ*, entre el 5 y 10% se extenderán más allá de la mama, por lo que cuando el tumor llega a tener 1 cm o más de diámetro, se corre el riesgo de que algunas células se desprendan y se diseminen por otras partes del cuerpo (metástasis).

Los invasores tienden a infiltrar los tejidos mamarios vecinos y a desprender grupos de células que llegarán a los ganglios axilares por los vasos linfáticos.

Los factores pronósticos son características 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. En el manuscrito del consenso de 1999 del Colegio Americano de Patólogos (7) 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 oncogén Her2/neu con el nivel de evidencia acumulada como factor predictivo debe considerarse dentro de la categoría I.

Cuadro 1. Factores Pronósticos

CATEGORÍA 1	CATEGORÍA 2	CATEGORÍA 3
Tamaño del Tumor	HER-2-neu***	Análisis de Ploidía de DNA
Estatus Ganglionar	p53	Angiogénesis
Grado Histológico	Permeación linfovascular	TGF-a
Tipo Histológico	Marcadores de proliferación celular (Ki67)	Bcl-2
Expresión de Receptores Hormonales***	Análisis de DNA	Catepsina D

Las mujeres con antecedentes de familiares de cáncer de mama (madre, hija o hermana) tienen un mayor riesgo que el resto de la población y mayor posibilidad en aquellas que el cáncer apareció antes de la menopausia. Se han identificado genes como: BRCA-1 y BRCA-2, en más de la mitad de los casos de cáncer de mama. (1,3)

El diagnóstico preclínico se realiza mediante una prueba de tamizaje llamado mastografía que es capaz de revelar la enfermedad desde el comienzo en mujeres asintomáticas. El diagnóstico temprano se realiza a toda mujer con sospecha de patología mamaria mediante una historia clínica completa enfocada a la búsqueda de factores de riesgo; examen clínico completo con énfasis en las glándulas mamarias y trayectos linfáticos.

Para establecer el diagnóstico definitivo es necesario el estudio histopatológico ya que las decisiones terapéuticas se formulan de acuerdo con las categorías del sistema de clasificación histopatológica de los carcinomas mamarios de la Organización Mundial de la Salud (OMS), condiciones generales de salud de la paciente, estadio de la enfermedad, estado hormonal de la mujer, recursos humanos y materiales con que se cuenta, considerando la voluntad y libre decisión de la paciente. Se debe contar con el consentimiento firmado de la mujer, previa información completa, veraz y basada en evidencias, de acuerdo con la norma oficial mexicana NOM-168-SSA1-1998, del expediente clínico. (3,4)

Los métodos terapéuticos que en la actualidad se basan para tratar el cáncer mamario son: cirugía, radioterapia, quimioterapia y hormonoterapia. De ellos la cirugía y la radioterapia tienen una acción local o loco regional; en la quimioterapia y la hormonoterapia su acción es sistémica. Los tratamientos quirúrgicos son: conservador, radical curativo, radical paliativo y reconstructivo. (3)

Radioterapia.

En el tratamiento de la paciente con cáncer se debe procurar el control local de la enfermedad, ya que con ello se logra un aumento de la curación por lo que la radioterapia forma parte del tratamiento multidisciplinario del cáncer mamario y sus indicaciones principales son como tratamiento complementario al quirúrgico, como tratamiento inicial y en su modalidad de paliativo (3)

Quimioterapia.

Esta se refiere al uso de agentes químicos no hormonales, su indicación es en los casos en que no hay respuesta a otro tratamiento, por tal motivo se debe realizar una determinación de receptores hormonales en el tumor mamario o en sus metástasis. (3)

Hormonoterapia

El tratamiento hormonal del cáncer mamario se sustenta en la identificación de los receptores hormonales en el tumor y en sus metástasis que permiten predecir la respuesta tumoral en sus fases adyuvante y paliativa. La selección de las pacientes candidatas al tratamiento hormonal, en ausencia clínica de actividad tumoral, se realiza idealmente al conocer que el tumor o sus metástasis tienen un alto contenido de receptores estrogénicos (más de 10 nano gramos de receptor por mg. de tejido). En ellas la respuesta esperada es mayor en el 80% de los casos. Cuando se dispone del auxilio de los marcadores tumorales es posible predecir la respuesta sobre bases clínicas. (3)

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea, que comprende varias entidades asociadas con características histológicas y biológicas distintivas, presentaciones clínicas y los comportamientos y respuestas a la terapia. Tecnologías basadas en microarreglos han desentrañado el fundamento molecular de varias características del cáncer de mama, incluyendo la propensión metastásica y grado histológico. Por otra parte, se ha propuesto una taxonomía molecular del cáncer de mama basado en análisis de transcriptómica y se han centrado principalmente en carcinomas ductales invasivos de tipo usual. Debido a la rareza relativa de los tipos especiales de cáncer de mama, la información sobre la biología y el comportamiento clínico de los cánceres de mama transmitido según el tipo histológico no se ha tomado. Los tipos especiales histológicos del cáncer de mama cuentan hasta un 25 % de todos los cánceres de mama invasivos. Estudios recientes han proporcionado evidencia directa de la existencia de correlaciones genotipo-fenotípicas.

Además en estudios, el análisis histopatológico y molecular de tumores a partir de modelos de ratón, ha proporcionado evidencia directa para el papel causal de genes específicos en la génesis de tipos histológicos específicos de cáncer de mama(6). Así el objetivo será poder discutir los posibles orígenes de la heterogeneidad del cáncer de mama y propondrá un enfoque para la identificación de nuevas dianas terapéuticas basadas en el estudio de los tipos especiales histológicos de cáncer de mama. Para esto es de suma

importancia conocer mediante estudios de inmunohistoquímica el estado de los receptores de estrógeno, progesterona, Her2.

Los métodos diagnósticos histopatológicos incluyen biopsias por aguja fina, biopsias guiadas por ultrasonografía, y especímenes de mastectomías. Estos tejidos se reciben para estudio transoperatorio y estudios diagnósticos definitivos. El primero se realiza con improntas y/o cortes congelados, y posteriormente se fijan formol amortiguado. El segundo se recibe la muestra en formol al 10%, y se somete a cortes seleccionados. Los cortes realizados, de menos de 0.5cm, se incluyen en capsulas que serán procesadas en el laboratorio para preparar el tejido en cortes realizados en micrótopo de entre 3 y 5 micras que serán colocados en laminillas y así teñirlos con hematoxilina-eosina. Con estas laminillas se realiza un diagnóstico morfológico de la lesión en estudio, y una vez confirmado el diagnóstico de cáncer de mama se realizan nuevos cortes que se colocan en laminillas electro cargadas para tinción de inmunohistoquímica con marcadores como receptores de estrógenos, receptores de progesterona y Her-2-neu; así como otros específicos solicitados de acuerdo al patrón morfológico del cáncer de mama.

RECEPTORES HORMONALES EN CANCER DE MAMA

El receptor de estrógenos-a (RE) y el receptor de progesterona (RP) son biomarcadores con valor pronóstico y predictivo de mayor importancia en la determinación de la terapia de cáncer de mama invasor (CMI). Así, el término pronóstico se refiere a factores asociados con la agresividad innata de CMIs, que si son adversos, generalmente resultan positivamente con el uso de terapias adyuvantes. El término predictivo se refiere a factores asociados con la respuesta de CMIs a terapias adyuvantes específicas. Los RE y RP tienen un factor pronóstico débil pero son factores predictivos fuertemente asociados a una buena respuesta a terapias endócrinas, como el tamoxifeno. Hoy en día el estudio de estos marcadores es parte del protocolo de todos los CMIs con el propósito de predecir la respuesta terapéutica. En la práctica diaria, estos estudios se realizan en tejido fijado en formol e incluido en parafina. (14,15)

Receptor de Estrógenos – Alfa (RE)

RE es un factor nuclear de transcripción activada por la hormona de crecimiento para regular el desarrollo, crecimiento y diferenciación del tejido mamario. Estas vías permanecen activas en varios grados en el CMI, incluyendo el crecimiento de las células epiteliales tumorales estimuladas por estrógeno que expresan el RE, y que son perjudiciales para las pacientes. La

evaluación de los RE se realiza desde la década de 1970. Se reconoce que el RE es un débil factor pronóstico pero un fuerte factor predictivo de respuesta a terapias endócrinas como tamoxifeno.

El tamoxifeno se une al RE e inhibe el crecimiento de las células tumorales estimuladas por estrógenos reduciendo significativamente la recurrencia y prolongando la supervivencia en pacientes con RE positivos. (8-13). De manera reciente, se ha descrito que el tamoxifeno reduce subsecuentemente el cáncer de mama en pacientes con carcinoma ductal in situ RE positivo (16) y en pacientes sin cáncer pero que tienen riesgo elevado para desarrollarlo. (17)

La respuesta clínica de las nuevas terapias endócrinas, como los inhibidores de aromatasa que suprimen la producción de estrógeno, también son dependientes del estatus de los RE, y sólo los tumores positivos responden.

En 1990 el Colegio Americano de Patólogos (CAP) y la Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) aprobó para el estudio de Receptores Hormonales (RE y RP) mediante inmunohistoquímica, por su menor costo, mayor seguridad, sensibilidad y especificidad a la usada en métodos anteriores como ensayos de unión de ligando, suponiendo que se realiza correctamente bajo los lineamientos propuestos por estas instituciones. A pesar de esto, existen problemas significativos con la validación técnica y clínica de la inmunohistoquímica que persisten hoy en día, resultando en interpretaciones inadecuadas (positivos vs negativos) en aproximadamente 20% de los casos. La mayoría de estos errores son falsos negativos, que son potencialmente catastróficos por que los pacientes involucrados no recibirán la terapia endócrina que mejoraría su pronóstico. (18, 19, 20)

Se han desarrollado nuevas tecnologías como estrategias diferentes a la inmunohistoquímica para la determinación de múltiples biomarcadores pronósticos y predictivos. Por ejemplo, una estrategia promisoriosa evalúa en RNA mediante transcriptasa reversa cuantitativa de reacción en cadena de polimerasa (qRT-PCR) la expresión de 21 genes de importancia en el cáncer de mama (incluyendo receptores hormonales). Otra estrategia utiliza microarreglos para determinar el perfil de expresión de RNA de genes inducidos por estrógenos en CMI. También se encuentra la determinación del rango de expresión de genes HOXB13 e IL17BR mediante qRT-PCR, que también es altamente predictivo para la respuesta a terapias endócrinas. (22,23)

Receptor de Progesterona (RP)

El RE regula la expresión del RP, así que la presencia de RP indica que la vía de señalización del RE se encuentra funcionalmente intacta. El RP es activado por la hormona progesterona que ayuda a regular diferentes funciones celulares fisiológicas, incluyendo proliferación, que al igual que los estrógenos y el RE, son perjudiciales para las pacientes con cáncer de mama.

Al igual que el RE, el RP fue originalmente medido por ensayos de unión de ligando demostrando ser débil factor pronóstico y fuerte factor predictivo de respuesta a la terapia endocrina. De la misma manera fue aprobado en 1990 por el CAP y ASCO para diagnóstico de rutina.

La expresión del RP está altamente correlacionado con el RE, pero la correlación no es perfecta, lo que resulta en cuatro posibles fenotipos de expresión combinada, cada una con tasas de respuesta a terapia hormonal significativamente diferentes, y distinguir estos resultados significativamente diferentes es la razón principal de que tanto el RE y el RP se midan en la práctica clínica habitual.

Por ejemplo, en comparación de los pacientes con CMI tratados con adyuvante tamoxifeno, el riesgo relativo de recurrencia de la enfermedad fue 28 % mayor en los pacientes con tumores RE positivo / RP negativo que en aquellos pacientes con tumores de RE positivo / RP positivo

Parece que los RE también pueden residir en el exterior de la membrana en un subconjunto de CMI. Una mayoría de estos tumores son negativos para RP, pero positivos para HER2 y RE nuclear, y este último no es funcional en muchos de estos tumores, en concordancia con su estado de RP negativo. Sin embargo, parece que el RE de membrana parece ser funcional y promueve la proliferación de células tumorales en cooperación con el Her2 sobre expresado.

También hay evidencia de que el tamoxifeno tiene un efecto estimulador o efecto agonista en el RE membranar, lo cual lleva a la especulación que los inhibidores de aromatasa se mantienen efectivos en este entorno porque inhiben la producción de estrógeno, que es el ligando tanto para RE nuclear y de membrana. Si se confirman estos estudios preliminares, la evaluación cuantitativa del RP puede adquirir mayor importancia, sobre todo en el subconjunto de tumores RE/Her2 positivos.

La evaluación del RE y del RP son obligatorios en la rutina de todos los pacientes con CMI. Ambos son los objetivos y / o indicadores de respuesta a terapias endocrinas altamente efectivas en muchos entornos clínicos, y la

evaluación de manera precisa es esencial. Desafortunadamente, los resultados de IHQ para RE y RP son inexactos (generalmente falsos negativos) en un máximo de 20 % de los pacientes. Las directrices publicadas por ASCO / CAP para la evaluación de RE y RP por IHQ hacen una serie de recomendaciones para ayudar a mejorar su precisión. Es responsabilidad de cada patólogo y del laboratorio la realización de estas pruebas para asegurar resultados precisos, y el cumplimiento de las directrices ayudaran a cumplir el objetivo principal, que es el bienestar del paciente. (19,20,22,23,24)

Frecuencia y Riesgo Relativo de recurrencia en pacientes con carcinoma de mama que reciben terapia hormonal adyuvante, estratificada en el estatus de receptor de estrógeno y receptor de progesterona		
Estatus de RE / RP	Frecuencia (% de casos)	RR de recurrencia*
Positivo / Positivo	50	0.47
Positivo / Negativo	25	0.75
Negativo / Positivo	3	1.08
Negativo / Negativo	22	1.0

- Comparaciones realizadas en pacientes con RE negativo / RP negativo con RR definido en 1.0. Valor P < 0.0001
- Tomado de: Bardou VJ, et al. Progesterone Receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large breast cancer databases. J Clin Oncol 2003;21:1973-1979

Oncogén HER2 (ERBB2)

Es una glicoproteína de 185-kD con actividad de tirosina cinasa, y se sabe hoy en día que 15 a 20 % de los carcinomas de mama demuestran la amplificación del gen HER2 y/o la sobreexpresión de la proteína. Sin terapia sistémica adyuvante, los pacientes con cáncer de mama HER-2 positivo tienen un peor pronóstico, mayor riesgo de recurrencia y mortalidad. Un aspecto mas importante es la determinación del estatus HER2 como factor predictivo. La positividad de HER2 es un marcador predictivo de respuesta a terapias basadas en taxanos y antraciclinas. También es de importancia recalcar que los CMI HER2 negativos muestran resistencia relativa a terapias endócrinas; sin embargo, este efecto se relaciona mas con SERMS

(moduladores selectivos de receptores de estrógenos) como el tamoxifeno y menos probable con terapias de depleción de estrógenos como los inhibidores de aromatasa. (23, 25, 26)

El Trastuzumab es un anticuerpo monoclonal humanizado para el HER2 y fue aprobado por la FDA en 1998. Este anticuerpo monoclonal mejora la respuesta, tiempo de progresión y supervivencia cuando se usa solo o en combinación con quimioterapia en el tratamiento de cáncer de mama metastásico. A pesar de ser usado inicialmente para los estadios de metástasis, diferentes estudios han mostrado los beneficios terapéuticos significativos en estadios tempranos del carcinoma mamario; así como la terapia neoadyuvante con Trastuzumab en carcinomas HER2 positivos.

Debido a su valor pronóstico y predictivo, el HER2 debe ser analizado en todos los casos nuevos de CMI, según las guías de la CAP/ASCO: Estas guías son bien definidas e incluyen tres categorías (pre analítico, analítico, y pos analítico) con el objetivo de asegurar la calidad del estudio. Para la determinación del HER2 se usan métodos como la inmunohistoquímica dependiendo del grado de tinción y en casos indeterminados como es score 2+ comprobación por inmunofluorescencia por hibridación in situ (FISH) para determinar la amplificación del gen.

Estatus de HER2, y factores pronóstico / predictivos

La literatura también sugiere una correlación inversa entre HER2 y receptores hormonales. Aunque la expresión de RE y RP disminuyeron en carcinomas HER2 positivos, una proporción sustancial de ellos todavía expresan receptores hormonales. Si se realiza una evaluación semicuantitativa detallada, aproximadamente el 15 % de todos los carcinoma de mama son HER2 positivo. De estos, un tercio (5 %) son RE negativos, un tercio (5 %) son RE positivos débiles o moderados, y el tercio restante (5 %) son fuertemente positivos para RE. Por lo tanto, de todos carcinomas de mama HER2 positivos, dos tercios son todavía RE positivo usando puntos de corte estándar según las directrices de la ASCO / CAP. Sin embargo, incluso en los carcinomas RE positivos , muchos son RP negativos o el nivel de expresión de RP se encuentra significativamente reducida. Estos hallazgos sugieren que, a pesar de la positividad del RE, la vía puede ser disfuncional en muchos carcinomas HER2 positivos. (22-26)

ESTATUS DE HER2 POSTERIOR A TERAPIA Y METÁSTASIS

Una serie de estudios sugieren que la expresión de HER2 no cambia con la terapia o en el sitio de metástasis. Sin embargo, algunos estudios han sugerido lo contrario. Se cree que la mayoría de la discordancia es debido a verdadera heterogeneidad de la expresión de HER2 en el tumor primario, que no es infrecuente en tumores grandes, o por los métodos de prueba y marcadores equívocos. Es importante para determinar el estado de HER2 en tumores metastásicos porque puede afectar significativamente las decisiones de tratamiento. Las guías de la ASCO / CAP recomiendan nuevas pruebas para HER2 y receptores hormonales para todos los pacientes con recidivas. (24)

ESTATUS DE HER2 Y RESPUESTA A TRATAMIENTO

Los tumores HER2 positivos son claramente sensibles a la terapia dirigida de HER2 (Trastuzumab) y los estudios han demostrado que la quimioterapia de combinación junto con Trastuzumab es aún más eficaz que el Trastuzumab por sí solo. El Trastuzumab que contiene la quimioterapia es ahora utilizado en escenarios de metástasis, como terapia adyuvante, e incluso neoadyuvante. Sin embargo, algunos tumores HER2 positivos son más sensibles a la terapia con Trastuzumab que otros. En escenarios de neoadyuvancia, se ha encontrado que la respuesta patológica completa y el porcentaje de reducción del volumen del tumor están inversamente relacionados con el contenido del receptor hormonal del tumor, medido semicuantitativamente por IHQ. Esta resistencia relativa a la terapia con Trastuzumab puede ser debido a la activación de otros receptores de factores de crecimiento tales como el receptor del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1R) en carcinomas RE positivos. Otros estudios también han descrito biomarcadores que pueden predecir la resistencia a la terapia con Trastuzumab, tales como la pérdida del gen supresor de tumores PTEN y la activación de la vía PI3K, así como la sobreexpresión factor de crecimiento endotelial vascular. En contraste, CMYC y TOP2A se han relacionado con la capacidad de respuesta a la terapia con Trastuzumab. (20)

En resumen, HER2 es un marcador pronóstico de vital importancia y el marcador predictivo en un subconjunto de carcinomas de mama. Incluso en esta época de ensayos de expresión de múltiples genes, la evaluación precisa del estado HER2 es de vital importancia debido a la disponibilidad de terapias dirigidas altamente eficaces.

GUIAS DE GRADIFICACION PARA HER 2 EN INMUNOHISTOQUÍMICA

Cabe mencionar que el sistema de gradificación ha presentado cambios a través de los últimos años, con motivo de ser mas estrictos en casos de pacientes que sean candidatos a la terapia blanco.

Los cambios mas notables son en los resultados 2+ y 3+. En las clasificaciones previas se aceptaba una tinción moderada de membrana observada en mas del 10% de las células neoplásicas, para el grado 2+. Para el grado 3+ era válido una tinción fuerte y completa de membrana en mas del 10% las células neoplásicas.

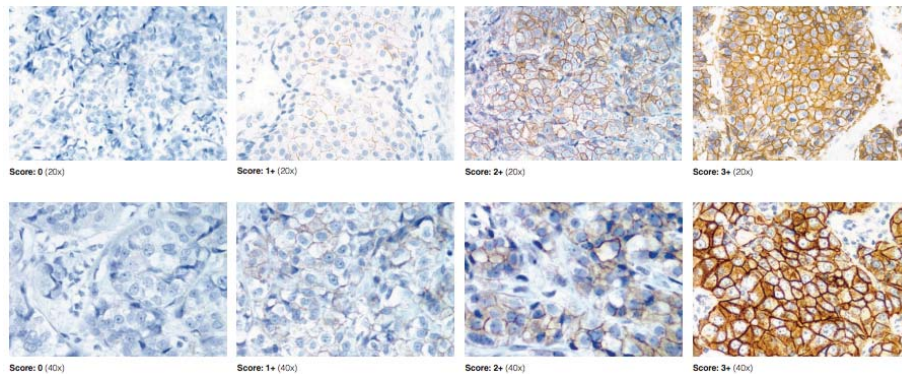
Hoy en dia, y desde finales del 2012 las guías de gradificación establecen los siguientes criterios:

IHC 0: considerado negativo. No hay tinción de membrana citoplásmica de las células tumorales.

IHC 1+: considerado negativo. Tinción débil, e incompleta de membrana citoplásmica celular, en mas del 10% de las células tumorales.

IHC2+: considerado borderline. Tinción de membrana no uniforme, débil a moderado, pero con distribución circunferencial de la membrana en mas del 10% de las células tumorales. O tinción completa de membrana e intensa en menos del 30% de las celulas tumorales.

IHC3+: considerado positivo. Tinción membrana intensa, uniforme observada en mas del 30% de las células tumorales.



CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CANCER DE MAMA

Tradicionalmente, el cáncer de mama se ha clasificado en términos generales en tipos ductales y lobulillares, en base a capacidad de formar conductos y su cohesividad celular. Un porcentaje menor se clasifican como "carcinomas de subtipo especial". Otro componente importante de la clasificación morfológica es la clasificación del tumor que incorpora la formación de túbulo/conductos en el tumor, su pleomorfismo nuclear, y una medida de la proliferación de las células tumorales contando el número de mitosis en 10 campos de alto poder. Este sistema de clasificación ha sido desarrollado y mejorado durante los últimos años y proporciona información pronóstica útil, con la ventaja de su bajo costo, sin embargo presenta varios inconvenientes en la actualidad debido a la existencia de terapias blanco disponibles. En primer lugar, no hay ninguna diferencia en tiempo libre de enfermedad y la supervivencia global entre el carcinoma ductal y el lobulillar. En segundo lugar, los investigadores han utilizado diferentes criterios para definir los tumores de subtipo especial y la mayoría de los criterios son arbitrarios. Por último, pero no menos importante, la parte más importante de la clasificación morfológica, es decir, la clasificación, sufre de moderada reproducibilidad interobservador. Todos estos factores, más el deseo de identificar nuevos factores pronósticos y predictivos y la disponibilidad de arreglos de expresión genética impulsaron la nueva clasificación molecular del carcinoma de mama. (14, 22)

El avance se produjo en el año 2000 cuando Perou y colaboradores describieron el cáncer de mama molecular utilizando microarreglos de ADN. Perou y sus colegas usaron microarreglos de ADN y estudiaron 8,102 genes humanos en 65 piezas quirúrgicas (36 carcinomas ductal invasivo, de los cuales 20 fueron muestreados dos veces y 2 tumores se emparejaron con los ganglios linfáticos; 2 carcinomas lobulillares, 1 carcinoma ductal in situ [DCIS], 1 fibroadenoma, y 3 tejidos normales de mama). El tumor experimental de la muestra se marcó mediante fluorescencia con Cy5 y la referencia (ARNm agrupados de 11 diferentes líneas celulares) se marcó con otro nucleótido fluorescente llamado Cy3. Estos se sometieron a hibridación con microarreglos de ADNc, y la abundancia relativa de las dos transcripciones se visualizó usando una imagen por pseudocoloración por la relación de la intensidad de fluorescencia "verde" o "rojo" en cada punto. Las proporciones fueron transformados logarítmicamente y los datos fueron analizados por el algoritmo de agrupamiento jerárquico, que clasifica las muestras en base a su similitud general de los patrones de expresión génica. Los autores eligieron 1753 del total de 8102 genes para este propósito porque estos 1753 genes de

transcripción mostraron una cuádruple repetición en la abundancia media en su conjunto de muestras en al menos tres muestras. Los "retratos moleculares" por lo tanto, mostraron similitudes y diferencias entre tumores de mama tumores relacionados con las variables biológicas tales como variaciones en tasa de crecimiento, las actividades de las vías de señalización específicas, y la composición celular de los tumores. Sin embargo, se dio cuenta que el conjunto de 1,753 genes todavía no eran óptimos para mostrar las propiedades biológicas intrínsecas del tumor. Estos hallazgos implican que cada tumor es único y tiene distinta expresión génica. También implica que el tipo y número de las células epiteliales en el carcinoma se mantiene bastante constante y no parece interferir en el análisis de expresión. Basado en estos resultados, los autores seleccionaron un subconjunto de genes alternativos con el argumento de que, si las características específicas del patrón de genes de expresión se usan para la clasificación, estas características deben ser similares en cualquier muestra del mismo tumor y variar entre los diferentes tumores. Esto dio lugar a la selección de 496 genes que se denominan un "subconjunto intrínseco de genes " y consistió en genes con mayor variación significativa en la expresión entre los diferentes tumores que entre muestras pareadas del mismo tumor. (22,23,25)

El " conjunto intrínseco de genes " era ideal para la clasificación porque consistía de genes cuyos patrones de expresión fueron característicos de un tumor individual en oposición a aquellos que varían como una función del tejido de muestreo. Otros análisis de hasta 115 muestras de carcinoma, de la clasificación molecular del conjunto intrínseco de genes ha revelado cinco clases distintas de carcinomas de mama: luminal A, luminal B (que incluye en luminal C descrito originalmente), HER2 (ERBB2), Basaloide y de tipo Mamario normal. Estos tumores luminales también expresan los genes de receptores de estrógeno y los luminales A muestran la máxima expresión de RE. Los tumores luminal B y C expresan genes de RE a un nivel inferior, pero luminal C también expresó algunos genes únicos (GGH, LAPTMB4, NSEP1, CCNE1) cuya función coordinada se desconoce. Los otros tres subtipos constituyen el grupo de tumores RE negativos. Los tumores ErbB2, como su nombre lo indica, se caracterizaron por la expresión de genes erbB2 (o HER2) en 17q22.24. Los tumores de tipo basal (o Basaloide) fueron nombrados porque expresan los genes expresados por células basales (células mioepiteliales). Por lo tanto, tumores basaloideos se caracterizaron por la expresión de genes de queratina KRT5, KRT17. Los tumores de tipo mamario normal han sido descritos con expresión de genes que se sabe son expresados por el tejido adiposo y otros tipos celulares no

epiteliales. Estos tumores también mostraron expresión de genes epiteliales basales. Sin embargo, más recientemente, se ha argumentado que este era una probable categoría artificial debido un tejido tumoral mal muestreado. La validez de este sistema de clasificación se probó adicionalmente con respecto a la sobrevida general y la supervivencia libre de recaída. En cuanto a pronóstico, los de peor pronóstico son los de tipo ErbB2 y de tipo basal (algunos de estos son portadores de mutaciones BRCA1); luminal A mostró el mejor pronóstico, y luminal B (incluyendo luminal C) fue de pronóstico intermedio; y aquellos tumores con mutación de BRCA1 generalmente son de tipo basaloide. (22,23,29)

Otros subtipos moleculares son:

Tumores bajos en Claudina (grupo de tumores triple negativos con perfil de expresión genética similar a los basales), con mayor expresi Presentan baja expresiñon de Claudinas 3, 4 y 7, tambien de E-cadherina, sin ser carcinomas lobulillarese expresito originalemyón de marcadores de transición epitelial - mesenquimal. Presentan baja expresión de Claudinas 3, 4 y 7, también de E-cadherina, sin ser carcinomas lobulillares, y a diferencia de estos últimos los carcinomas bajos en Claudina no muestran expresión de genes de proliferación, baja expresión de HER2, Citoqueratinas 18 y 19, RE y RP, con expresión inconsistente de queratinas 5, 14, y 17. Tienen peor pronóstico que los de tipo basal al tener una menor respuesta a quimioterapia neoadyuvante basada en antraciclinas/taxanos y menor respuesta patológica completa. Tumores de tipo Apócrino, con características histológicas apócrinas, y que se presentan con perfil inmunohistoquímico: RE-/RP-/HER2+ /AR+ o RE-/RP-/HER2- /AR+.

El carcinoma de mama de tipo normal comparte características del tejido mamario normal, muestra una fuerte expresión de genes normalmente expresados en el tejido adiposo y baja expresión de genes epiteliales luminales. Su perfil es (RE-, RP-, HER2-, CK5/6-, CK14-, p63- y/o EGFR-) (24)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Identificar el patrón molecular de cáncer de mama de acuerdo a marcadores de inmunohistoquímica que presenta mayor frecuencia en las pacientes derechohabientes del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, que determinaría el pronóstico y tratamiento de la población.

JUSTIFICACIÓN

Actualmente el cáncer mas común en las mujeres es el cáncer de mama y se ha convertido en la primera causa de muerte en México.

Los carcinomas de mama representan un grupo heterogéneo de tumores en su comportamiento clínico como pronóstico, así también en su perfil molecular y genético.

El objetivo del presente trabajo es clasificar los carcinomas de mama en subtipos moleculares mediante marcadores inmunohistoquímicos y analizar las características histopatológicas e inmunohistoquímicas que predecirán los patrones de respuesta a tratamiento, supervivencia y recaída de los distintos subtipos.

HIPÓTESIS

Si los patrones moleculares de mayor frecuencia detectados en cáncer de mama, corresponden a un mejor pronóstico por la presencia/ausencia de marcadores empleados.

Si los patrones moleculares menos frecuentes detectados en cáncer de mama, corresponden a un peor pronóstico por la presencia/ausencia de marcadores empleados.

OBJETIVOS

Objetivo General

- 1) Definir la frecuencia de los patrones moleculares de cáncer de mama invasor
- 2) Determinar la expresión de receptores de estrógeno, progesterona y Her2, mediante el uso de inmunohistoquímica en casos diagnosticados de carcinoma invasor, en el Servicio de Patología del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos del ISSSTE recabadas durante el periodo del año 2013 al 2014, con el fin de guiar al oncólogo respecto a la toma de decisiones en el tratamiento y pronóstico.
- 3) Aportar bases para el futuro desarrollo de inmunoterapia blanco en pacientes diagnosticados con cáncer de mama de mal pronóstico molecular, basados en su perfil molecular.
- 4) Analizar casos de HER2 con score 2+, que son aquellos con mayor variabilidad interobservador, mediante SISH.

Objetivos Específicos

- 1) Realizar los marcadores de inmunohistoquímica en el protocolo de estudio de cáncer de mama en el Servicio de Patología del HRLALM recabados durante el periodo del 2013 al 2014.
- 2) Reasignar los casos estudiados de acuerdo a la clasificación molecular de cáncer de mama.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio transversal, descriptivo, prospectivo y retrospectivo, en el cual se estudiarán las muestras de pacientes con diagnóstico histopatológico de carcinoma de mama invasor, del Servicio de Patología del Hospital Regional "Lic. Adolfo López Mateos", durante el periodo de enero de 2013 a diciembre de 2014 que cuenten con las laminillas para su revaloración y que cuenten con tejido neoplásico en buen estado en bloques de parafina, para poder realizar estudios con marcadores de inmunohistoquímica necesarios. Los casos fueron localizados en la base de datos de estudio de inmunohistoquímica del Servicio de Patología Quirúrgica.

Criterios de inclusión:

1. Expediente clínico del caso en archivo del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos del ISSSTE.
2. Casos de carcinoma de mama invasor, diagnosticadas en el Servicio de Patología .
3. Casos archivados con laminillas y suficiente tejido en bloques parafina para realizar tinciones adicionales de inmunohistoquímica.

Criterios de exclusión y eliminación:

1. Todas las casos que no tengan tejido en parafina suficiente para realizar tinción de inmunohistoquímica.
2. Todos los casos que no tengan diagnóstico de carcinoma invasivo o lesiones benignas, y premalignas.
3. Tejidos que no conserven sus propiedades antigénicas para realizar tinción de inmunohistoquímica.
4. Casos en los que el tejido en parafina se agote al hacer cortes necesarios para inmunohistoquímica.
5. Falta de datos clínicos.
6. Ausencia de bloques de parafina y/o laminillas de casos en archivos del servicio.
7. Casos de patrones moleculares especiales que no han sido validados, como el bajo en Claudina, Normal Breast Like y de tipo Apócrino.

Se utilizó una cédula de recolección de datos en la que se incluyó el número quirúrgico del caso, el número de estudio de inmunohistoquímica, la edad de la paciente, diagnóstico histopatológico, grado nuclear, grado de expresión de receptor de estrógeno, receptor de progesterona y Her2.

Para el estudio de inmunohistoquímica, se utilizaron los siguientes marcadores:

- Receptor de Estrógenos: Anticuerpo monoclonal. Clona: SP1 prediluido. Ventana Medical Systems de Roche.
- Receptor de Progesterona: Anticuerpo monoclonal. Clona 1E2 prediluido. Ventana Medical Systems de Roche.
- Her-2: Anticuerpo monoclonal. Clona: 4B5 prediluido. Ventana Medical Systems de Roche.

VARIABLES:

Receptor de Estrógeno (+ considerado mas de 1% de los núcleos)

Receptor de Progesterona (+ considerado mas de 1% de los núcleos)

Her2:

IHC 0: considerado negativo. No hay tinción de membrana citoplásmica de las células tumorales.

IHC 1+: considerado negativo. Tinción débil, e incompleta de membrana citoplásmica celular, en mas del 10% de las células tumorales.

IHC2+: considerado "borderline" o indeterminado. Tinción de membrana no uniforme, débil a moderado, pero con distribución circunferencial de la membrana en mas del 10% de las células tumorales. O tinción completa de membrana e intensa en menos del 30% de las células tumorales.

IHC3+: considerado positivo. Tinción membrana intensa, uniforme observada en mas del 30% de las células tumorales.

En casos de Her 2+, "borderline" o indeterminado por inmunohistoquímica, se realiza análisis cuantitativo mediante SISH cuantitativo (medición de copias del gen HER2/n)

Un índice normal es menor a 2 (SISH -)

Un índice mayor o igual a 2 de HER2 por copias de cromosoma 17 es de amplificación genética (SISH +)

1. Se considerará un resultado *no amplificado* cuando la ratio de HIS (señales del gen HER2 frente a señales del cromosoma 17) sea menor de 1,8.

2. Se considerará un resultado *amplificado* cuando la relación de HIS (señales del gen HER2 frente a señales del cromosoma 17) sea mayor de 2,2.

3. Se considerará un resultado *borderline o indeterminado* cuando la relación de HIS (señales del gen HER2 frente a señales del cromosoma 17) esté entre 1,8 y 2,2.

4. Se considerará un resultado como *polisomía* cuando el número de señales del centrómero 17 por núcleo sea ≥ 3 y como monosomía cuando sea $< 1,5$. La monosomía 17 puede originar falsos positivos en la interpretación cuando se emplea doble sonda. Así, en algunos casos con monosomía 17 es evidente que la relación $HER2/CEN17 \geq 2$ es causada por la existencia de una única copia del centrómero 17 y dos copias del gen HER2, por lo que estos casos no deberían interpretarse como amplificados

5. Se considerará un resultado como *no interpretable* si ocurre al menos una de las siguientes circunstancias:

- a) No hay presencia de señales de una u otra sonda en al menos 20 células.
- b) Si estas señales son débiles o inexistentes en más del 25% de las células.
- c) No es posible valorar como mínimo dos áreas diferentes de carcinoma infiltrante.
- d) Los controles no muestran el resultado esperado.

Para la evaluación de los resultados cuando se utilicen técnicas de HIS fluorescente con sólo sonda del gen HER2 se aplicarán los siguientes criterios:

1. Se considerará un resultado *no amplificado* cuando se observen < 4 señales.

2. Se considerará un resultado *amplificado* cuando se observen > 6 señales.

3. Se considerará un resultado *borderline* cuando se observen entre 4 y 6 señales. En estos casos se recomienda la cuantificación de un mayor número

de células tumorales o, al igual que en la HIS con doble sonda, sopesar repetir la técnica en a) una sección distinta o (b) en la pieza quirúrgica si se realizó el HIS sobre una biopsia.

Para la evaluación de los resultados cuando se utilicen técnicas de HIS con revelado cromogénico (SISH), con sólo sonda del gen HER2, se aplicarán los siguientes criterios:

1. Se considerará un resultado *amplificado* cuando se observen >10 señales de hibridación o agregados gruesos de señales en más de 50% de células problema.
2. Se considerará un resultado *no amplificado* cuando se observen 1-5 señales de hibridación en más del 50% de células (entre 3 y 5 señales suele corresponder a polisomía para el cromosoma 17, aunque sin recomendarse su confirmación).
3. Cuando se observen entre 6 y 10 señales de hibridación o agregados discretos de señales en más del 50%, se practicará determinación con sonda CEN17 y se considerará *amplificado* si el promedio de señales CEN17/núcleo es 2 (disomía) y *no amplificado-polisomía* si el promedio de señales CEN17/núcleo es ≥ 3 . En este tercer grupo de resultados, puede también contemplarse como alternativa la posibilidad de realizar técnica de HIS fluorescente o SISH con doble sonda.

VALORACION DEL GRADO HISTOLÓGICO

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

VALORACIÓN DEL GRADO NUCLEAR

GRADO NUCLEAR DE BLACK FISHER			
Característica	1 (Bien diferenciado)	2 (Moderadamente diferenciado)	3 (Poco diferenciado)
Tamaño nuclear en relación al conducto	Similar, o agrandamiento mínimo	Dos veces de variación; uniformidad es la regla con variación leve	Tres veces de variación en el diámetro nuclear
Membrana nuclear	Uniforme	Redonda, lisa	Irregular
Cromatina		Uniforme, fina	Hipercromática, gruesa
Nucléolo		Macro +/-	Macro+
Mitosis		Moderadas	Frecuentes

RESULTADOS

Del total de casos estudiados (164 casos), se eliminaron 20 casos por no disponer de material suficiente en bloques de parafina, por ser casos de carcinoma in situ, por ser casos de metástasis de carcinoma de mama, por no pertenecer a la clasificación molecular en estudio o por falta de material en caso de pacientes que retiraron sus bloques al ser referidas a otra unidad.

El análisis se realizó en 144 casos de pacientes con carcinoma de mama infiltrante; las edades varían de los 31 a los 97 años, con edad media de 58.7 años, moda de 45 años, mediana de 58 años. Se dividieron en 7 grupos etarios de 10 años quedando de la siguiente manera: a) 31 a 40 años, b) 41 a 50 años, c) 51 a 60 años, d) 61 a 70 años, e) 71 a 80 años, f) 81 a 90 años, g) mas de 91 años.

El primer grupo (31 a 40 años) estuvo constituido por un total de 3 casos que corresponde al 2.08 % del total de casos estudiados. El segundo grupo (41 a 50 años) estuvo constituido por un total de 39 casos que corresponde al 27.08 % del total de casos estudiados. El tercer grupo (51 a 60 años) estuvo constituido por un total de 47 casos que corresponde al 32.63 % del total de casos estudiados. El cuarto grupo (61 a 70 años) estuvo constituido por un total de 27 casos que corresponde al 18.75 % del total de casos estudiados. El quinto grupo (71 a 80 años) estuvo constituido por un total de 22 casos que corresponde al 15.27 % del total de casos estudiados. El sexto grupo (81 a 90 años) estuvo constituido por un total de 5 casos que corresponde al 3.47 % del total de casos estudiados. El séptimo grupo (mas de 90 años) estuvo constituido por un total de 1 caso que corresponde al 0.69 % del total de casos estudiados.

Se estudio la frecuencia de casos por grupos Luminal A, Luminal B, Basal, y Her-2, quedando de la siguiente manera. Para el grupo Luminal A se analizaron 111 casos, que corresponden al 77.08% del total de casos estudiados. Para el grupo Luminal B se analizaron 4 casos, que corresponden al 2.77% del total de casos estudiados. Para el grupo Basal se analizaron 18 casos, que corresponden al 12.50% del total de casos estudiados. Para el grupo Her-2 se analizaron 11 casos, que corresponden al 7.63% del total de casos estudiados.

De los 144 casos se encontraron diferentes tipos y subtipos histológicos, descritos en la siguiente tabla.

Patrón Histológico	Numero de casos
Ductal	124
Lobulillar	10
Ductal – Lobulillar	2
Ductal – Medular	1
Ductal – Micropapilar	1
Ductal – Mucinoso	1
Mucinoso	2
Metaplásico	1
Papilar	1
Micropapilar	1

Tabla 1. Distribución por grupos etarios

Grupos de edad	LUMINAL A	LUMINAL B	BASAL	HER 2
31-40	2	0	1	0
41-50	32	0	6	1
51-60	34	1	7	5
61-70	22	2	1	2
71-80	17	1	2	2
81-90	4	0	0	1
>91	0	0	1	0

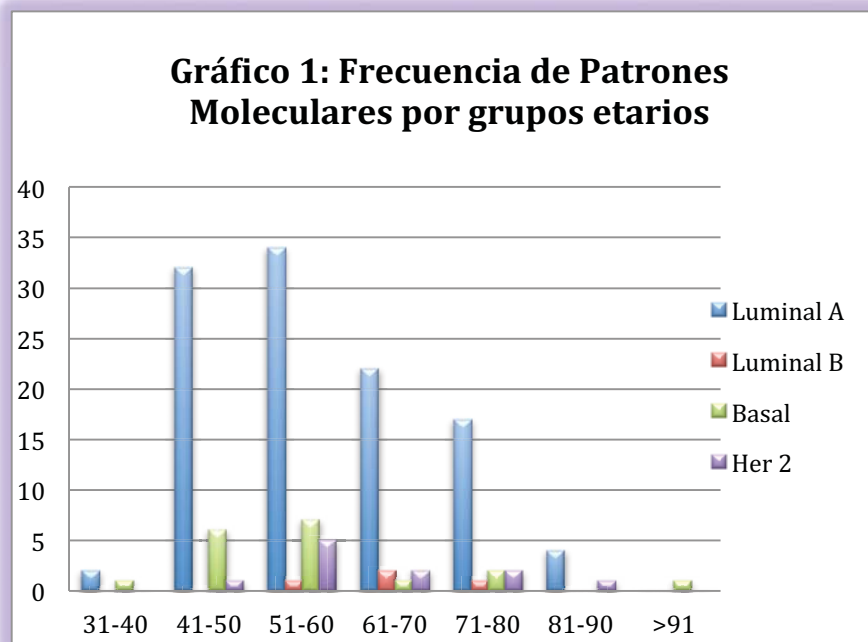


Tabla 2. Número y porcentaje de casos por grupos etarios

GRUPOS DE EDAD	NUM. CASOS	PORCENTAJE
31-40	3	2.08%
41-50	39	27.08%
51-60	47	32.63%
61-70	27	18.75%
71-80	22	15.27%
81-90	5	3.47%
>91	1	0.69%

Gráfico 2. Porcentaje de casos por grupos etarios

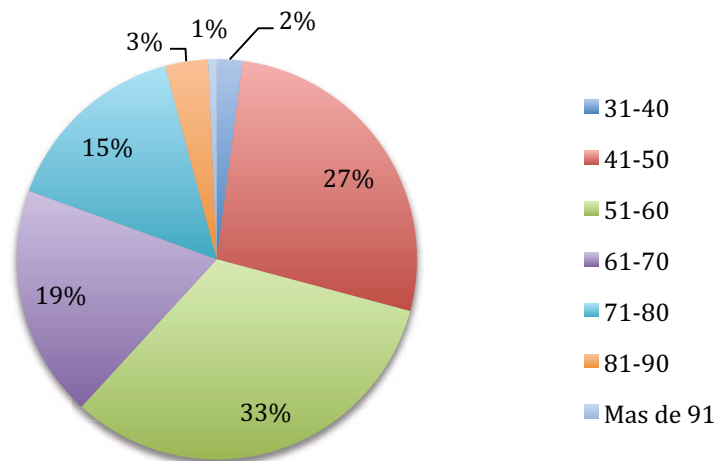


TABLA 3. Número y porcentaje de casos por patrón molecular

PATRON MOLECULAR	NUMERO DE CASOS	PORCENTAJE DE CASOS
LUMINAL A	111	77.08%
LUMINAL B	4	2.77%
BASAL	18	12.50%
HER2	11	7.63%

Gráfico 3. Porcentaje de casos de Patrones moleculares

■ Luminal A ■ Luminal B ■ Basal ■ Her-2

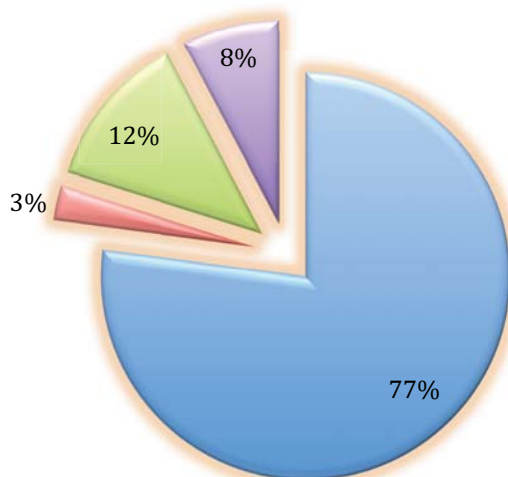
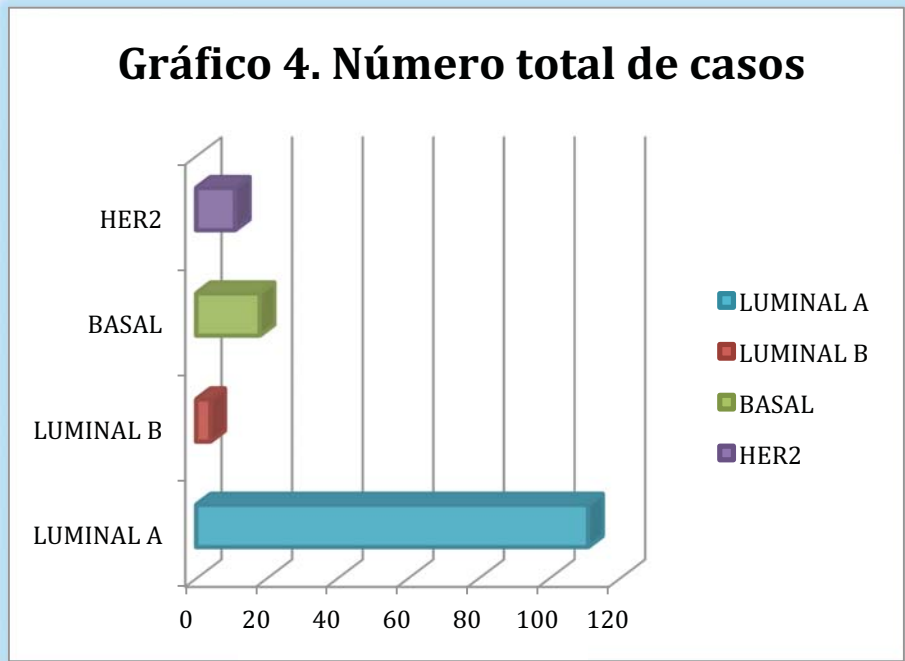
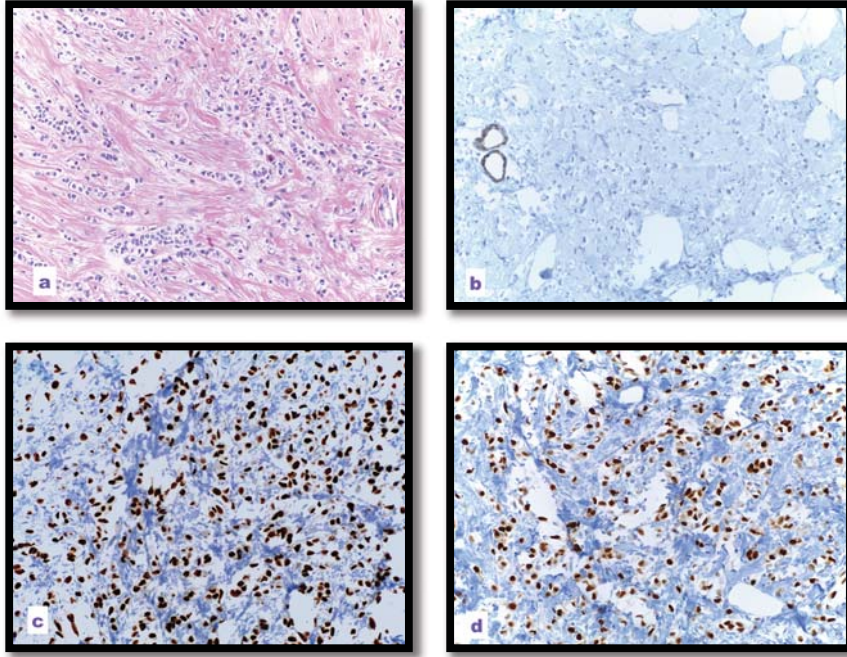
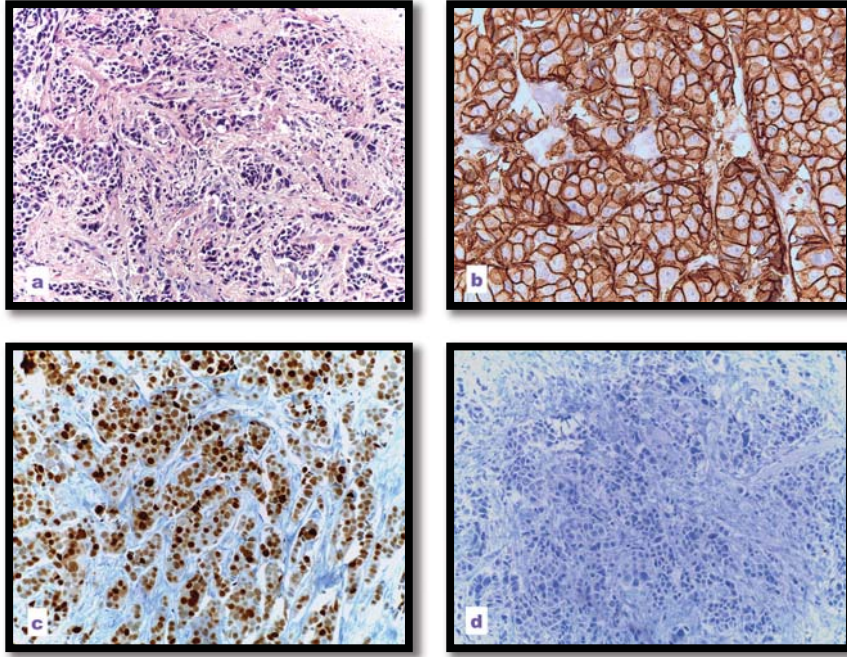


Gráfico 4. Número total de casos





**Imagen 1. Q-1818-14. Carcinoma Lobulillar infiltrante.
Luminal A. a: HE 20x, b: Her2, c: RE, d: RP**



**Imagen 2. Q-359-13. Adenocarcinoma Ductal infiltrante.
Luminal B. a: HE 20x, b: Her2 , c: RE, d: RP**

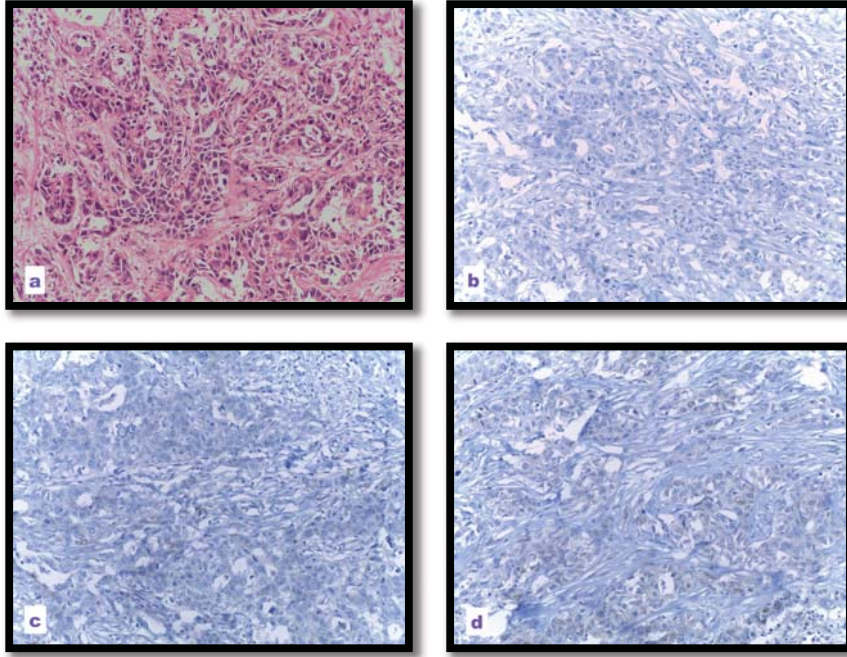
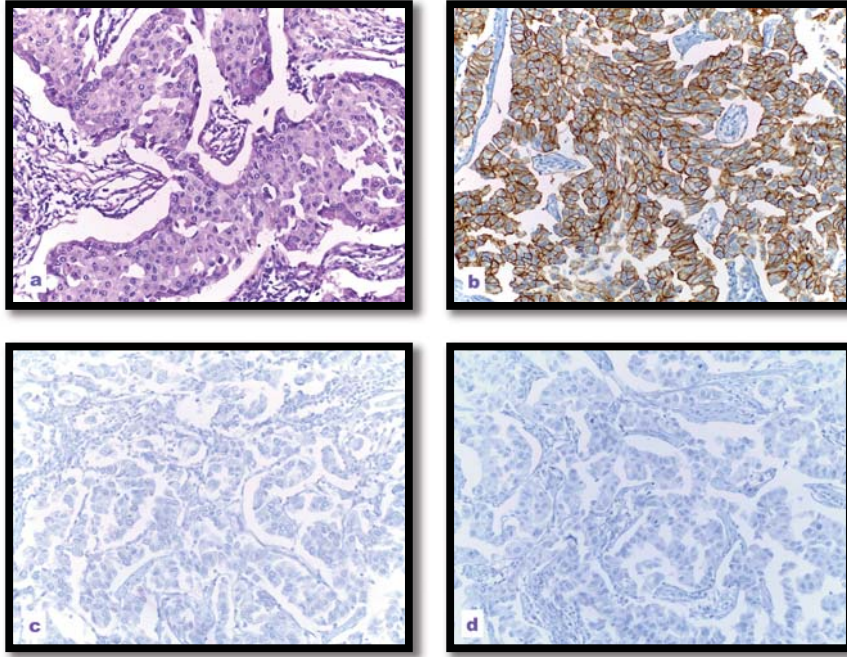


Imagen 3. Q-2072-14. Adenocarcinoma Ductal infiltrante.
Basal. a: HE 20x, b: Her2 , c: RE, d: RP



**Imagen 4. Q-3720-14. Adenocarcinoma ductal infiltrante
Her2. a: HE 20x, b: Her2 , c: RE, d: RP**

Tabla 4.

ESTADISTICA DE CASOS DE CARCINOMA MAMARIO ESTUDIADOS PARA SOBREENPRESIÓN DE HER 2

	0	1+	2+	3+	Total
2006	31	26	31	18	106
2007	53	45	23	26	147
2008	37	54	22	23	136
2009	44	48	23	33	148
2010	53	49	18	17	137
2011	46	41	19	18	124
TOTAL	264	263	136	135	798
	33%	33%	17.5%	16.8%	

*Resultados hasta el 24 de oct 2011
Dr. Fernando E. De la Torre Rendón. HRLALM*

ESTADISTICA DE CASOS DE CARCINOMA MAMARIO ESTUDIADOS PARA SOBREENPRESIÓN DE HER 2

	0	1+	2+	3+	Total
2013	36	21	2	15	74
2014	36	30	5	13	84
TOTAL	72	51	7	28	158
	45%	32%	5%	18.0%	

*Resultados de 2013 a 2014.
HRLALM*

DISCUSIÓN

En este estudio se analizaron 144 casos diagnosticados como carcinoma de mama infiltrante, a los cuales se les realizó tinciones de inmunohistoquímica para determinar el patrón molecular y en caso de ser candidatos o no, determinar la terapia blanco a la cual serían sometidos.

Desde el punto de vista estadístico, la mayor parte de casos se presenta entre pacientes de 41 a 70 años de edad, y una edad promedio de 58.7 años. El patrón molecular Luminal A es el que se presenta con mayor frecuencia (77% de los casos estudiados), seguido por el patrón molecular Basal (12% de los casos estudiados), Her-2 (8% de los casos estudiados), y por último el patrón molecular Luminal B (3% de los casos estudiados).

En este estudio se observó que el fenotipo molecular predominante numéricamente fue el luminal A. La información recogida por Blows y col (30) de 10.159 casos de carcinoma de mama procedentes de doce estudios diferentes, publica que el 78% del total de casos (7.243 casos) correspondía a carcinomas de mama de tipo luminal. De ellos, el 92% era de tipo luminal A (7.882 casos) y el 8% era de tipo luminal B (639 casos). Nuestra serie muestra un porcentaje cercano,

De los casos revisados en nuestra serie, el 8% de los pacientes corresponde a carcinomas de mama de patrón molecular tipo HER2, porcentaje similar al publicado en el estudio de Blows y col (30) en el cual tan sólo el 6,2% (632 casos) corresponde a carcinomas de fenotipo HER2. En la revisión de la base de datos del Servicio de Patología del año 2006 al 2011, la positividad de casos para Her2 es de 16.8%, y durante el periodo de estudio es de 18%, (Tabla 4), porcentaje levemente inferior al observado en la literatura internacional, donde se ha mostrado que 20-30% de los carcinomas de mama expresa HER2 (31,32).. La clasificación modificada de Schnitt del 2009, es actualmente la mas aceptada entre diversos autores y por el Colegio Americano de Patólogos. Sin embargo, existen tipos que aun quedan pendientes de ser validados como aquellos en los que la positividad para Her2, Receptores de Estrógeno y Receptores de Progesterona con un corte mayor de 20% de éste último marcador.

Se reviso también la frecuencia y estadística de casos Her2 de la base de datos del Servicio de Patología del año 2006 al 2011 con la frecuencia y estadística en este estudio y se ha identificado leve variación de resultados, predominantemente en los score 2+ y 3+, como se ha comentado, debido

quizá a los cambios en la rigidez para estos dos resultados. Esto se debe quizá a que las Guías de Gradificación de Her2, previas al 2013 requerían menos porcentaje de células con marcación (10%), mientras que la Guía de Gradificación actual realiza el corte en 30% de las células neoplásicas

HER2 es un importante marcador predictivo de respuesta a trastuzumab en cáncer de mama. Múltiples estudios han probado la eficacia y seguridad de trastuzumab en el tratamiento neoadyuvante, adyuvante y en la enfermedad metastásica de pacientes con cáncer de mama de tipo HER2.

Por último el grupo de carcinomas de mama de fenotipo basal constituyó el 12%. En la literatura médica el porcentaje de carcinomas de mama de fenotipo basal varía en los diferentes estudios y oscila entre el 4,2% y el 26,8% (33), lo cual concuerda con nuestro estudio.

En cuanto a los carcinomas de mama de tipo basal, son tumores fundamentalmente indiferenciados en comparación con los carcinomas de tipo luminal y los carcinomas de tipo HER2. Según diversos autores, aunque los carcinomas de mama de tipo basal son generalmente de alto grado, no guardan relación con el factor pronóstico más importante en el cáncer de mama, la invasión ganglionar (34,35,36).

Los estudios inmunohistoquímicos del cáncer de mama revelan la expresión de determinadas proteínas en las células tumorales por lo que se podrían considerar un reflejo válido de los estudios de biología molecular así como una alternativa válida a los costosos estudios genéticos. Aunque algunos autores han demostrado que los carcinomas de mama se pueden catalogar en subtipos similares a los de expresión génica mediante un panel de marcadores inmunohistoquímicos, en el momento actual no existe acuerdo sobre qué marcadores deben utilizarse en la clasificación del cáncer de mama, especialmente al definir los carcinomas de mama de fenotipo basal, ni sobre el porcentaje o intensidad de tinción celular requerido (37,38). En el año 2004, Nielsen y col (37) utilizando un panel de cuatro anticuerpos (RE, HER2, HER1 y CK5/6) observaron que existía una buena correlación entre el perfil génico y el perfil inmunohistoquímico. Otros autores proponen la utilización de otros marcadores en la definición de los carcinomas de mama (CK14, ki-67, CK17, EGFR, c-kit, p63, P-cadherina y actina de músculo liso) (35,39,40). Para evitar sesgos en futuros ensayos clínicos y valorar su efectividad predictiva sería conveniente que los anatomopatólogos unificaran criterios en

la determinación IHQ de los marcadores para la clasificación del cáncer de mama.

En otro ámbito, diversos estudios han demostrado que dentro de los subtipos histológicos existe importante variación pronóstica, de forma que ciertos tipos como el tubular, mucinoso, y medular tienen buen pronóstico mientras que otros como los carcinosarcomas, carcinomas de mama en anillo de sello o los carcinomas inflamatorios muestran mal pronóstico (41). Sin embargo, estos subtipos constituyen un porcentaje pequeño del total de carcinomas de mama y, de hecho, a pesar de esta diversidad en el comportamiento, el 70-80% de los tumores se clasifican como carcinomas ductales infiltrantes. Resulta evidente que bajo esa misma denominación se están clasificando tumores con un comportamiento clínico diferente.

Nuestros resultados indican que la aplicación de estos marcadores IHQ en el ámbito clínico permite obtener una mejor definición pronóstica del cáncer de mama y diseñar los tratamientos de forma individualizada para obtener el mayor beneficio con el menor riesgo posible. Es indudable la importancia de evaluar el riesgo individual de cada paciente y de identificar a aquellas pacientes que tienen mayor agresividad tumoral, que pueden recibir tratamiento en una fase temprana del diagnóstico, así como aquellas pacientes con tumores de menor patogenicidad que no requieren someterse a los riesgos y efectos secundarios que implican los tratamientos citotóxicos. Conocer el pronóstico de un paciente con carcinoma de mama permite, por una parte, informar al paciente y/o a sus familiares sobre la posible evolución de la enfermedad y, por otra, permite elegir el tratamiento más apropiado para cada paciente.

CONCLUSIONES

Con los datos actualmente disponibles podemos afirmar que la carcinomas de mama invasores de tipo receptores hormonales positivos, se pueden separar por subtipificación molecular en Carcinomas de Mama Luminal A, que son aquellos con mayor prevalencia, presentan un comportamiento menos agresivo y los Luminal B que se asocian a mayor grado nuclear, mayor rango de proliferación y un peor pronóstico. Aparte de la subtipificación molecular genética, puede ser posible diferenciar entre estos dos grupos utilizando la evaluación inmunohistoquímica el marcador de proliferación Ki67, según lo informado por Cheang et al, donde muestran un punto de corte de 14%. Este método de evaluación demostró utilidad en proporcionar información pronóstica, sin embargo aun se han demostrado tasas de falsos positivos y falsos negativos de aproximadamente 25%, lo que sugiere que hay un margen de mejora dentro de este método de investigación y que abre un área para la investigación en curso.

Separando el método de investigación, la diferenciación de los carcinomas mamarios en subtipos moleculares es crítica, con el fin de identificar las opciones terapéuticas más adecuadas para los pacientes. En general, el tratamiento endócrino solo se recomienda para el subtipo molecular Luminal A, que lleva una excelente tasa de supervivencia a 10 años de aproximadamente 90%. Sin embargo, la latencia del tumor y las recurrencias tardías posteriores a 10 años son características de este subtipo molecular.

De manera adicional, aun hay falta de conocimiento sobre los mecanismos detrás de la latencia del tumor, destacando más áreas cruciales para futuras investigaciones. Además, la forma y duración de la terapia endócrina óptima, tanto en mujeres pre y posmenopáusicas, es hasta ahora desconocida; la extensión del tratamiento endócrino más allá de 5 o incluso 10 años, así como el agente endócrino más efectivo, requiere también un estudio para definir mejor los algoritmos de tratamiento para los diferentes subtipos moleculares.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. "Cáncer, el asesino silencioso de la mujer mexicana". *Conversus*. Instituto Politécnico Nacional. México. 2006. p. 47-50
2. "European guidelines for quality assurance in breast cancer". *British Medical Journal* 2000;321: 869.
3. Compendio de patología mamaria. Secretaría de Salud. México D.F., México, 2002. p. 13-14, 79-82
4. Soto, WG. El seno, prevención y cura del cáncer de mama. Nuevo Extremo, Buenos Aires, Argentina. 2006. p. 65-66.
5. Schnitt S. Classification and prognosis of invasive breast cancer: From morphology to molecular taxonomy, *Breast Long Course*. USCAP 2009, 261.
6. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, et al. Prognostic factors in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 124: 966-78.
7. Pérez VM, et al. Diagnóstico Histopatológico y Factores Pronóstico en Cáncer Infiltrante de Glándula Mamaria. *Instituto Nacional de Cancerología* 2008;5: 7-17
8. Elledge RM, et al. Clinical aspects of estrogen and progesterone receptors. In Harris JR, et al. *Diseases of the Breast*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004, p. 602-617.
9. Albain K, et al. Concurrent (CAFT) versus sequential (CAF-T) chemohormonal therapy (cyclophosphamide, doxorubicin, 5-fluorouracil, tamoxifen) versus T alone for postmenopausal, node-positive, estrogen (ER) and/or progesterone (PR-receptor positive breast cancer: mature outcomes and new biological correlates on phase III Intergroup Trial 0100 (SWOG-8814). *Breast Cancer Res Treat* 2004;88:37.
10. Dahabreh IJ, et al. Trastuzumab in the adjuvant treatment of early-stage breast cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Oncologist* 2008;13:620-630.
11. Fitzgibbons PL, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124: 966-978.
12. Prat A, Baselga J. The role of hormonal therapy in the management of hormonal-receptor-positive breast cancer with coexpression of HER2. *Nat Clin Pract Oncol*. 2008;5: 531-542.
13. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 2005;365: 1687-1717.

14. Fuqua S, et al. The biology of estrogen receptors. In: Harris JR, et al, eds. *Diseases of the Breast*. Philadelphia: Lippincott. Williams & Wilkins; 2004:585-602.
15. Keen JC, et al. The biology of breast carcinoma. *Cancer* 2003;97-3:825-833.
16. Allred DC, et al. Adjuvant tamoxifen reduces subsequent breast cancer in women with hormone receptor-positive DCIS: a study based on NSABP protocol B-24. 2011.
17. Fisher B, et al. Tamoxifen for the prevention of breast cancer: current status of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *J Natl Cancer Inst* 2005;97: 1652-1662.
18. Gown AM. Current issues in ER and HER2 testing by IHC in breast cancer. *Mod Pathol* 2008;21-2: S8-S15.
19. Joensuu H, et al. Adjuvant docetaxel or vinorelbine with or without Trastuzumab for breast cancer. *N Engl J Med* 2006;354: 809-820.
20. Piccart-Gebhart MJ, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1659-1672.
21. Perou CM, et al. Distinctive gene expression patterns in human mammary epithelial cells and breast cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:9212-9217.
22. Perou CM, Sorlie T, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406:747-752.
23. Sorlie T, Perou CM, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:10869-10874.
24. Sorlie T, Tibshirani R, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:8418-8423.
25. Sorlie T. Molecular classification of breast tumors: toward improved diagnostics and treatments. *Methods Mol Biol* 2007;360:91-114.
26. Bertucci F, et al. Gene expression profiling identifies molecular subtypes of inflammatory breast cancer. *Cancer Res* 2005;65:2170-2178.
27. De la Vera-Salazar E. Tendencias de la mortalidad por cáncer de mama en México, 1980-2009. *Salud Pública Méx* 2011; Vol. 53(5):385-393
28. Palacios J. Recomendación para la determinación de HER2 en cáncer de mama. Consenso nacional de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) y de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). *Rev Esp Pat* 2009; 1: 15-22.
29. De la Cruz MA, De la Torre FE. Estudio inmunohistoquímico en carcinoma de mama de tipo basaloide como grupo epidemiológico de mal

- pronóstico. Tesis Recepcional. División de Estudios de Posgrado e Investigación, UNAM 2012. Reg 188.2012
30. Blows FM, et al. Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *PLoS Med* 2010; 7:(5) 1000279.
 31. Tsakountakis N, et al. Correlation of breast cancer risk factors with HER 2/NEU protein overexpression according to menopausal and estrogen receptor status. *BMC Women Health* 2005; 5: 1-9.
 32. Huang W, et al. Risk of breast cancer according to the status of HER-2/neu oncogen amplification. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 65-71.
 33. Rouzier R, Perou CM, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res.* 2005; 11: 5678-5685.
 34. Carey LA, Perou CM, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006; 295: 2492-2502.
 35. Rakha EA, et al. Morphological and immunophenotypic analysis of breast carcinomas with basal and myoepithelial differentiation. *J Pathol* 2006; 208: 495-506.
 36. Da Silva L, et al. Demystifying basal-like breast carcinomas. *J Clin Pathol* 2007; 60: 1328-1332.
 37. Nielsen TO, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5367-5374.
 38. Livasy CA, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol* 2006; 19: 264-271.
 39. Burness ML, et al. Epidermal Growth Factor Receptor in triple-negative and basal-like breast cancer: promising clinical target or only a marker? *Cancer* 2010; 16: 23-32.
 40. Matos I, et al. p63, cytokeratin 5, and P-cadherin: three molecular markers to distinguish basal phenotype in breast carcinomas. *Virchows Arch* 2005; 447: 688-694.
 41. Ellis IO, et al. Pathological prognostic factors in breast cancer. II. Histological type. Relationship with survival in a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1992; 20: 479-489.

ANEXOS

Tabla de recopilación de datos

SIH	Q-AÑO	EDAD	RE	RP	HER 2	SISH/PCR
1	8213-12	54	90%	90%	0	
3	8200-12	42	95%	90%	0	
7	39-13	66	100%	100%	1+	
8	13-13	64	0%	0%	3+	
9	59-13	63	95%	90%	1+	
12	8298-12	68	0%	0%	0	
32	8271-12	63	100%	80%	1+	
35	359-13	67	70%	< 5%	3+	
36	366-13	75	95%	60%	0	
45	99-13	57	90%	80%	0	
49	526-13	45	80%	100%	1+	
50	527-13	46	90%	0%	1+	
51	283-13	45	90%	40%	1+	
58	500-13	63	60%	< 5%	0	
64	755-13	54	0%	0%	0	
72	902-13	53	0%	0%	0	
73	895-13	45	100%	10%	0	
77	1080-13	79	100%	40%	0	
84	1147-13	52	100%	80%	0	
85	928-13	48	90%	100%	0	
89	1057-13	72	90%	1%	3+	
93	1251-13	43	80%	40%	1+	
96	1252-13	70				
105	1405-13	63	90%	90%	3+	
107	1579-13	52	0%	0%	0	
118	1963-13	51	5%	0%	3+	
119	1521-13	72	100%	100%	1+	
120	1783-13	56	100%	60%	1+	

130	2174-13	31	0%	0%	0	
139	2404-13	52	90%	90%	1+	
155	2621-13	81	0%	0%	3+	
158	2735-13	60	20%	0%	1+	
159	2609-13	75	85%	80%	0	
169	2645-13	45	20%	0%	0	
173	3086-13	51	10%	5%	3+	
175	2963-13	52	90%	40%	0	
177	2746-13	50				
185	3317-13	42	90%	10%	1+	
188	3312-13	64	90%	70%	1+	
192	3209-13	57	30%	2%	3+	
209	3818-13	58	95%	95%	0	
212	3433-13	61	100%	40%	0	
225	3888-13	56	90%	5%	1+	
226	3889-13	83	100%	90%	0	
230	4027-13	76	100%	95%	0	
231	3635-13	76	90%	0%	0	
250	4511-13	76	95%	85%	0	
252	4582-13	71	100%	90%	0	
254	4431-13	54	100%	30%	1+	
257	4626-13	80	100%	80%	1+	
260	4586-13	70				
263	4727-13	49	100%	20%	3+	
270	4878-13	51	0%	5%	0	
275	4859-13	59	100%	95%	1+	
284	4851-13	58	90%	80%	1+	
285	4971-13	68	80%	20%	2+	POSITIVO
288	4767-13	66				
291	5164-13	72	95%	85%	0	
296	5203-13	58				

304	5384-13	70	100%	0%	0	
305	5323-13	50	100%	5%	0	
309	5514-13	61	95%	0%	0	
317	5607-13	47				
322	5668-13	46	0%	10%	0	
323	5449-13	61				
328	5787-13	45	< 1%	0%	3+	
333	5858-13	66	0%	0%	1+	
340	5728-13	42	100%	80%	0	
341	5922-13	64	90%	20%	3+	
348	5927-13	64				
361	5998-13	46	100%	0%	0	
362	6080-13	42	70%	25%	2+	POSITIVO
368	6199-13	55	70%	90%	3+	
372	6162-13	60	0%	10%	0	
1	14-14	55				
5	74-14	53	90%	30%	1+	
16	288-14	59	0%	0%	3+	
24	458-14	66	90%	10%	1+	
35	574-14	59	5%	95%	0	
37	628-14	49	100%	80%	1+	
49	394-14	71	95%	95%	0	
56	1129-14	62	100%	95%	1+	
58	1017-14	51	80%	100%	0	
61	1052-14	50	90%	90%	1+	
73	1400-14	56	20%	25%	0	
76	643-14	50	90%	1%	0	
94	1698-14	59	Tejido agotado	Tejido agotado	Tejido agotado	
96	1743-14	77	0%	0%	1+	
98	731-12	49	Tejido agotado	Tejido agotado	Tejido agotado	

99	1695-14	56	0%	5%	0	
102	1418-14	71	100%	100%	0	
107	1818-14	64	90%	90%	0	
109	1780-15	77	90%	0%	3+	
116	1929-14	51	90%	1%	0	
119	1948-14	49	0%	0%	0	
122	1985-14	59	100%	90%	0	
129	2207-14	47	0%	0%	2+	NEGATIVO
129	2207-14	47	0%	0%	1+	
133	2072-14	45	0%	0%	0	
138	2237-14	74	90%	0%	1+	
149	2051-14	71	90%	10%	0	
152	2058-14	67	90%	60%	0	
153	2511-14	47	50%	50%	1+	
155	2417-14	58	100%	5%	1+	
158	2337-14	52				
159	2605-14	47	50%	0%	3+	
164	2341-14	49	90%	0%	1+	
170	2757-14	58	0%	5%	3+	
171	2567-14	54				
175	2819-14	75	0%	0%	0	
175	2819-14	75				
176	2612-14	48	70%	20%	1+	
178	2896-14	51	100%	100%	0	
182	2878-14	66				
186	2944-14	72	0%	0%	3+	
199	3078-14	60	100%	60%	1+	
205	3045-14	61	97%	80%	1+	
214	3401-14	49	100%	5%	1+	
218	3416-14	60	99%	99%	1+	
225	3303-14	56	90%	< 1%	2+	NEGATIVO

226	3400-14	43	60%	70%	3+	
229	3472-14	51	80%	1%	0	
237	3358-14	45	90%	1%	0	
253	3720-14	71	0%	0%	3+	
254	3511-14	60	95%	5%	0	
256	3570-14	64	1%	2%	3+	
257	3780-14	46	90%	< 5%	1+	
259	3505-14	64	98%	80%	2+	NEGATIVO
260	3175-14	46	95%	95%	0	
285	3948-14	54	90%	80%		
289	4229-14	33	90%	90%	1+	
299	3299-14	56	100%	80%	1+	
301	4282-14	81	90%	90%	0	
302	3742-14	40	50%	20%	1+	
303	3663-14	74	100%	60%	1+	
305	3916-14	54	90%	0%	0	
309	3864-14	62		Tejido agotado	Tejido agotado	
319	4396-14	42	90%	90%	0	
325	4334-14	86	100%	5%	1+	
326	4336-14	62	100%	80%	3+	
345	5066-14	59	100%	5%	0%	
356	5281-14	52	0%	0%	2+	
359	5305-14	45				
368	5450-14	44	60%	0%	2+	*+Amp baja
370	5441-14	53	0%	0%	0	
372	5474-14	42	80%	40%	0	
373	5448-14	97	10%	20%	0	
383	5587-14	60	90%	80%	1+	
384	5596-14	67	95%	70%	1+	
387	5729-14	62				
401	5470-14	79				

414	5963-14	64	90%	50%	0%	
422	5983-14	84	100%	0%	1+	
428	6113-14	51	0%	0%	1+	
433	6315-14	49				
439	6004-14	79	90%	70%	1+	
451	6446-14	62	100%	65%	0	
452	6449-14	47	0%	0%	0	
457	6535-14	70	100%	100%	0	
458	6493-14	47	98%	98%	0	
461	6639-14	50	95%	0%	1+	
467	6633-14	68	100%	< 1%	3+	
473	6726-14	58	70%	35%	3+	
476	6789-14	47	20%	0%	0	