



**EXPRESION
INMUNOHISTOQUIMICA DEL
CARCINOMA DE MAMA:
PREVALENCIA DEL TRIPLE
NEGATIVO**

**Fonseca IB, Luque C, Szulc SI,
Collard A, Altamirano BR,
Spitale LS.**

Introducción: El carcinoma de mama representa la principal causa de muerte por cáncer en mujeres. ^{1, 2.}

Los cánceres de mama constituyen un grupo heterogéneo de neoplasias malignas con diversas características clínico-patológicas y moleculares, que tienen un pronóstico y respuesta al tratamiento variados.

Generalmente se los clasifica de acuerdo a la inmunoexpresión de receptores hormonales (estrógeno y progesterona) y del receptor del factor de crecimiento 2 de la epidermis humana (HER2). Esto se traduce en tres grandes grupos:

- Tumores que expresan receptores hormonales: son aquellos positivos para receptores de estrógenos (ER) y/o progesterona (PR).
- Tumores que expresan el receptor HER2: sin embargo no poseen receptores hormonales.
- Tumores triple-negativo.

El cáncer de mama triple negativo (CMTN) se define como la ausencia de tinción del receptor de estrógeno, progesterona y HER2/neu (receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano). El CMTN es insensible a la terapia anti HER2, como el trastuzumab, y al tratamiento endocrino con tamoxifeno. ³

A pesar de que esta agrupación es simplista, posee un importante valor pronóstico y se utiliza ampliamente para guiar la conducta terapéutica (1).

El objetivo de la presente comunicación es **estudiar y cuantificar la prevalencia del CMTN.**

Material y Métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de 50 casos de carcinoma de mama, de pacientes asistidas en el HUMN, durante el período 2007-2011. Los materiales utilizados fueron fijados en formol acuoso al 10%. Se estudió la expresión inmunohistoquímica con el método Avidina-Biotina-Peroxidasa (ABP), con marcadores para estrógenos, progesterona y HER2/neu.

Se incluyeron piezas quirúrgicas con diagnóstico de carcinoma ductal y lobulillar tanto *in situ* como invasor, positivos para ER y/o PR, así como tumores que expresaron sólo HER-2/neu y los tumores triple negativos.

Subtipos moleculares*:

Perfil Inmunohistoquímico	Luminal A	Luminal B	HER2/neu	Basal símil
ER, PR	ER y/o PR (+)	ER y/o PR (+)	ER(-), PR (-)	ER(-), PR(-)
HER2	HER2 (-)	HER2 (+) o HER2 (-)	HER2 (+)	HER2 (-)

- Modificado por Schnitt SJ. Will molecular classification replace traditional breast pathology?. Int J Surg Pathol 2010. pp 18:162s-166s

Clasificación Molecular del Cáncer de mama

Los avances realizados en los últimos años implementando la tecnología de micromatrices de ADN (también conocida como *DNA microarrays*, *chips de ADN*, *pastillas de ADN*, *microarreglos de ADN*) y otras técnicas de biología molecular, han facilitado el análisis de la heterogeneidad molecular tumoral (entre ellos, el cáncer de mama) con respecto a la regulación de múltiples genes y a la consecuente expresión proteica (2, 3). Dichos estudios perfilados, han demostrado que los tumores de mama pueden englobarse, en general, en uno de los 5 subtipos existentes. Cada una de estas variedades tiene un fenotipo definido con respecto al origen celular epitelial (basal o luminal) y a la expresión de receptores. Los subtipos incluyen dos grupos de ER-positivo, referidos como subtipos luminal A y B, y tres grupos de receptores hormonales negativos que componen uno con sobreexpresión de HER2, otro tipo mama normal y por último otro de tipo basal.

Algunos autores han asociado los subtipos moleculares de cáncer de mama con características clínico-biológicas particulares, incluyendo diferentes grados de sensibilidad a los tratamientos y un pronóstico variado (4). Sin embargo, estos resultados aún no se han validado en grandes cohortes de pacientes ni en ensayos clínicos prospectivos.

Otras cuestiones como la normalización y la reproducibilidad de la metodología también necesitan ser resueltas antes de que los perfiles de expresión génica puedan ser utilizados de forma fiable como herramientas para orientar decisiones clínicas (5).

El cáncer de mama tipo basal se caracteriza por la disminución o ausencia de expresión de ER, ausencia de HER2 y sobre-expresión de genes (cuáles??) usualmente encontrados en células mioepiteliales o basales de la mama normal (6, 7).

Los tumores triple-negativos y tipo basal, comprenden el 15% de todos los cánceres invasivos de mama y generalmente son de alto grado histológico (5, 7). El gen BRCA1 está mutado en más del 75% de los cánceres de mama triple-negativo, basal o ambos (5, 7).

Los términos cáncer de mama triple negativo y cáncer de mama tipo basal se han utilizado indistintamente. Sin embargo, éstos no deberían tomarse como sinónimos ya que no todos los tumores triple-negativos tienen características del tumor basal, y algunos de éstos expresan uno o más de los receptores hormonales y HER2 (11, 12, 13).

Origen celular de los cánceres de mama de tipo basal

Los cánceres de mama de tipo basal poseen algunas características fenotípicas que son compatibles con las células madres. A pesar de esto, hay una fuerte evidencia de que los tumores basales surgen del compartimento luminal progenitor (14, 15).

Las células cancerosas del cáncer triple-negativo y del tipo basal, muestran un perfil de marcadores de superficie celular que son similares a los de las células madres, caracterizados por el fenotipo CD44+ y CD24- y la expresión de la aldehído deshidrogenasa 1 (16).

La aldehído deshidrogenasa 1 (ALDH1) ha sido identificada como un marcador fiable de las células madre del cáncer de mama, y su significación clínica como un indicador pronóstico de cáncer de mama ha sido reportada por varios investigadores, los cuales encontraron que la expresión de ALDH1 en pacientes con cáncer de mama con ganglios positivos predijo un pronóstico pobre (17).

El gen que codifica a la proteína 2 tipo-Stomatin humana (SLP-2) fue clonado y caracterizado (3). El ARNm de SLP-2 ha demostrado tener una amplia distribución en los tejidos (18, 19), revelando que la expresión SLP-2 está regulada en el carcinoma de células escamosas de esófago (CECA), carcinoma de células escamosas de laringe (LSCC) y otros tipos de cáncer. Además, se encontró que la SLP-2 se sobreexpresa en tejidos con adenocarcinoma endometrial en comparación con los tejidos endometriales normales (20).

Mutación del gen BRCA1 y cáncer de mama triple-negativo o basal

Hay un vínculo entre los cánceres de tipo basal y el gen BRCA1. La gran mayoría de los tumores ocurren en mujeres que tienen una mutación en este gen, en particular en aquellas que tienen diagnóstico de cáncer antes de los 50 años, que tienen características morfológicas muy similares al cáncer de tipo basal no hereditario y que a menudo exponen un fenotipo basal definido por estudios de inmunohistoquímica (22, 23).

Evolución clínica y marcadores pronósticos

El fenotipo triple negativo se ha asociado con una mayor tasa de recurrencia y metástasis a distancia y una mayor frecuencia de metástasis en pulmón, hígado, cerebro, medula espinal y meninges comparados con otros tipos de cáncer de mama (11, 25).

Hay muy pocos informes publicados sobre la respuesta al tratamiento para los pacientes con cáncer de mama específicamente de tipo triple negativo. Datos preliminares sugieren que los tumores triple negativo pueden ser más sensibles que algunos de los otros subtipos de cáncer de mama, a varios tipos de quimioterapia neoadyuvante, así como a altas dosis de quimioterapia adyuvante, aunque el impacto en el resultado no está claro (26, 27, 28).

Resultados: Del total de los casos estudiados (N=50), 44 (88 %) fueron positivos para ER / PR y 4 (8 %) fueron positivos para HER-2/neu y Negativos para ER/ PR. Los dos casos restantes (4 %) no expresaron positividad para ninguno de los tres receptores (triples negativos).

Conclusión. Si bien la incidencia de CMTN es baja, en relación a los otros subtipos, se ha postulado que los mismos representan un grupo heterogéneo de tumores que morfológicamente corresponden a carcinomas mamarios invasores de alto grado, con una alta tasa de recurrencia y de metástasis, principalmente en pulmones y cerebro.^{4,5}

Bibliografía

1. Hasebe T, Shobata T, Kinoshota T. Important histologic outcome predictors in patient with invasive ductal carcinoma of the breast. *Am J Surg Pathol* 2011; 35: 1484- 1497.
2. Anthony D. Elias, MD. Triple-Negative Breast Cancer. *Am J Clin Oncol* 2010, 33: 637–645.
2. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, André F, Tordai A, Mejia JA, Symmans WF, Gonzalez-Angulo AM, Hennessy B, Green M, Cristofanilli M, Hortobagyi GN, Pusztai L. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 26 (8): 1275-81, 2008.
4. Rosai and Ackerman's. *Surgical Pathology*. Tenth Edition. Vol 2, Editorial Mosby, Elsevier, 2011
5. Tavasoli FA, Eusebi V. *AFIP Atlas of Tumor Pathology*. Tumors of the mammary gland, Silver Spring, Maryland 2009.

Referencias bibliográficas

1. Anthony D. Elias, MD. Triple-Negative Breast Cancer. *Am J Clin Oncol* 33: 637–645 (2010).
2. Abd El-Rehim DM, Ball G, Pinder SE, et al. High-throughput protein expression analysis using tissue microarray technology of a large wellcharacterized series identifies biologically distinct classes of breast cancer confirming recent cDNA expression analyses. *Int J Cancer* 116:340 (2005).
3. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:10869 – 10874.350 (2001).
4. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res.* 11: 5678–5685 (2005).
5. Reis-Filho JS, Westbury C, Pierga JY. The impact of expression profiling on prognostic and predictive testing in breast cancer. *J Clin Pathol.* 59:225–231 (2006).
6. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 406:747-52 (2000).
7. Rakha EA, Reis-Filho JS, Ellis IO. Basal-like breast cancer: a critical review. *J Clin Oncol* 26:2568-81 (2008).
8. Weigelt B, Baehner FL, Reis-Filho JS. The contribution of gene expression profiling to breast cancer classification, prognostication and prediction: a retrospective of the last decade. *J Pathol* 220:263-80 (2010).
9. Sotiriou C, Pusztai L. Gene-expression signatures in breast cancer. *N Engl J Med* 360:790-800 (2009).
10. Reis-Filho JS, Tutt AN. Triple negative tumours: a critical review. *Histopathology* 52:108-18 (2008).
11. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, et al. Prognostic markers in triplenegative breast cancer. *Cancer*109:25–32 (2007).
12. Kusinska R, Potemski P, Jesionek-Kupnicka D, et al. immunohistochemical identification of basal-type cytokeratins in invasive ductal breast carcinoma –relation with grade, stage, estrogen receptor and HER2. *Pol J Pathol.* 56:107–110 (2005).
13. Banerjee S, Reis-Filho JS, Ashley S, et al. Basal-like breast carcinomas: clinical outcome and response to chemotherapy. *J Clin Pathol.* 59:729–735 (2006).
14. Lim E, Vaillant F, Wu D, et al. Aberrant luminal progenitors as the candidate target population for basal tumor development in BRCA1 mutation carriers. *Nat Med* 15:907-13 (2009).
15. Molyneux G, Geyer FC, Magnay FA, et al. BRCA1 basal-like breast cancers originate from luminal epithelial progenitors and not from basal stem cells. *Cell Stem Cell* 7:403-17 (2010).
16. Morrison BJ, Schmidt CW, Lakhani SR, Reynolds BA, Lopez JA. Breast cancer stem cells: implications for therapy of breast cancer. *Breast Cancer Res* 10:210 (2008).
17. Yoshioka T, Umekita Y, Ohi Y et al. Aldehyde dehydrogenase 1 expression is a predictor of poor prognosis in node-positive breast cancers: a long-term follow-up study. *Histopathology* 58; 608–616 (2011).
18. Luo A, Kong J, Hu G, et al. Discovery of Ca2p-relevant and differentiation- associated genes downregulated in esophageal squamous cell carcinoma using cDNA microarray. *Oncogene* 23: 1291–9 (2004).
19. Lu J, Liu Z, Xiong M, et al. Gene expression profile changes in initiation and progression of squamous cell carcinoma of esophagus. *Int J Cancer* 91: 288–94 (2001).

20. Cui Z, Zhang L, Hua Z, et al. Stomatin-like protein 2 is overexpressed and related to cell growth in human endometrial adenocarcinoma. *Oncol Rep* 17: 829–33 (2007).
21. Cao W, Zhang B, Liu Y, et al. High-level SLP-2 expression and HER-2/neu protein expression are associated with decreased breast cancer patient survival. *Am J Clin Pathol* 128: 430–6 (2007).
22. Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO, et al. Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 95:1482-5 (2003).
23. Lakhani SR, Reis-Filho JS, Fulford L, et al. Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype. *Clin Cancer Res* 11:5175-80(2005).
24. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, et al. Prognostic markers in triplenegative breast cancer. *Cancer* 109:25–32 (2007).
25. Haffty BG, Yang Q, Reiss M, et al. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer. *J Clin Oncol.* 24:5652–5657 (2006).
26. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, et al. Differential response to primary chemotherapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer _ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. *J Clin Oncol.* 25:569 (2007).
27. Marty ME, Guinebretiere J, Mathieu M, et al. Triple-negative phenotype is a strong predictor of sensitivity to epirubicin-cyclophosphamide (EC) then docetaxel (D) (ECD) primary chemotherapy (PCT) for localized breast cancer _ASCO Annual Meeting Proceedings Part I_. *J Clin Oncol.* 25:739 (2007).
28. Nitz UA, Gluz O, Herr A, et al. Retrospective analysis of WSG AM01 tandem high dose chemotherapy trial in high risk primary breast cancer: a hypothesis generating study _ASCO Annual Meeting Proceedings Part I_. *J Clin Oncol.* 24:44 (2006).
29. Sullu Y., et al., Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 expression in invasive ductal carcinoma of the breast, *Pathol. – Res. Pract* (2011), doi:10.1016/j.prp.2011.09.010.
30. Hirvonen R., Talvensaaari-Mattila A., Paakko P., Turpeenniemi-Hujanen T. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in T1-2N0 breast carcinoma, *Breast Cancer Res. Treat.* 77: 85–91 (2003).
31. Abbas Abidi S.M., E.W. Howard, J.J. Dmytryk, J.T. Pento, Differential influence of antiestrogens on the in vitro release of gelatinases (type IV collagenases) by invasive and non-invasive breast cancer cells, *Clin. Exp. Metastasis* 15: 432–439 (1997).
32. McGowan P.M., Duffy M.J. Matrix metalloproteinase expression and outcome in patients with breast cancer: analysis of a published database, *Ann. Oncol.* 19: 1566–1572 (2008).
33. Philips N., McFadden K. Inhibition of transforming growth factor-beta and matrix metalloproteinases by estrogen and prolactin in breast cancer cells, *Cancer Lett.* 206: 63–68 (2004).
34. Duffy M.J., Maguire T.M., Hill A., McDermott E., O’Higgins N., Metalloproteinases: role in breast carcinogenesis, invasion and metastasis, *Breast Cancer Res.* 2: 252–257 (2000).
35. Duffy M.J., McCarthy K. Matrix metalloproteinases in cancer: prognostic markers and targets for therapy, *Int. J. Oncol.* 12: 1343–1348 (1998).
36. Lopez-Otin C., Matrisian L.M. Emerging roles of proteaz in tumour suppression, *Nat. Rev. Cancer* 10: 800–808 (2007).
37. Martin M.D., Matrisian L.M. The other side of MMPs: protective roles in tumor progression, *Cancer Metastasis Rev.* 26: 717–724 (2007).
38. Rahko E., Jukkola A., Melkko J., Paavo P., Bloigu R., Talvensaaari-Mattila A., Turpeenniemi-Hujanen T. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) immunoreactive protein has modest prognostic value in locally advanced breast carcinoma patients treated with an adjuvant antiestrogen therapy, *Anticancer Res.* 24:4247–4254 (2004).

39. Li HC, Cao DC, Liu Y, Hou YF, Wu J, Lu JS, Di GH, Li FM, Ou ZL, Jie C, Shen ZZ, Shao ZM. Prognostic value of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in patients with lymph node-negative breast carcinoma, *Breast Cancer Res. Treat.* 88: 75–85 (2004).
40. McGowan PM, Duffy MJ. Matrix metalloproteinase expression and outcome in patients with breast cancer: analysis of a published database, *Ann. Oncol.* 19:1566–1572 (2008).
41. Lavrik IN., Golks A., Krammer PH. Caspases: pharmacological manipulation of cell death. *J Clin Invest*, 115:2665–2672 (2005).
42. Robbins SL, Cotran RS. La piel. En: *Patología estructural y funcional*. Editorial Elsevier. 8^{va} edición, pp 1180-1182 (2010).
43. Stupack DG. Caspase-8 as a therapeutic target in cancer. *Cancer Lett.* doi:10.1016/j.canlet.2010.07.022. (2010).
44. Cox A, Dunning AM, Garcia-Closas M. a common coding variant in CASP8 is associated with breast cancer risk. *Nat Genet* 39:352-8 (2007).
45. Mac Pherson G, Healey CS, Teare D. Association of a common variant of the CASP8 gene with reduced breast risk cancer. *J Nat Cancer Inst* 96:1866-9 (2004).
46. Frank B, Bermejo JL, Klaes R. Re: Association of a common variant of the CASP8 gene with reduced breast risk cancer. *J Nat Cancer Inst* 97:1012 (2005).