



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

PETRÓLEOS MEXICANOS
SUBDIRECCIÓN DE SERVICIOS DE SALUD
GERENCIA DE SERVICIOS MÉDICOS
HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD

**Evaluación de las características histopatológicas de los
carcinomas de mama triple negativo con inmunofenotipo similar
al de células basales en base a su perfil inmunohistoquímico .**
Estudio prospectivo y retrospectivo de enero de 2005 a diciembre del
2010, en el servicio de Patología del HCSAE PEMEX.

TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALIDAD DE
ANATOMÍA PATOLÓGICA

PRESENTA

DR. JAVIER HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

TUTOR DE TESIS: DR. MARIA IRENE RIVERA SALGADO

ASESORES DE TESIS:

DRA. VERÓNICA BAUTISTA PIÑA

DRA. ROSA MARIA VICUÑA GONZALEZ

DR. EDUARDO COLMENARES BERMUDEZ



PEMEX

MÉXICO D.F. AGOSTO 2011



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.

DR. CARLOS FERNANDO DÍAZ ARANDA

DIRECTOR DEL HOSPITAL

DRA. JUDITH LÓPEZ ZEPEDA

JEFA DEL DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

DRA. MARÍA IRENE RIVERA SALGADO

JEFE DE SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

PROFESOR TITULAR DEL CURSO Y TUTOR DE TESIS

DRA. VERÓNICA BAUTISTA PIÑA

ASESOR DE TESIS

DRA. ROSA MARÍA VICUÑA GONZÁLEZ

ASESOR DE TESIS

DR. EDUARDO COLMENARES BERMÚDEZ

ASESOR ESTADÍSTICO

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar le agradezco a Dios por permitirme vivir y darme la oportunidad de seguir en el camino.

A mi PADRE Y MADRE por seguir apoyándome y regalándome amor a lo largo de mi vida.

A mi ABUELA que aunque no está conmigo es la inspiración que me ayuda a seguir adelante en momentos difíciles

A mi novia por su amor y comprensión; juntos hemos logrado un éxito más.

A toda mi familia: tíos, sobrinos, y amigos por su cariño.

A mi tutor de tesis por todo el apoyo recibido para la realización de este trabajo

A mis compañeros de esta especialidad, quienes recorrieron conmigo un camino de alegrías, tristezas, pero sobre todo gracias por compartir la sed de aprendizaje en esta preciosa especialidad.

A mis maestros quienes tuvieron la paciencia y sobre todo el compromiso de enseñanza en estos tres años.

A todas las autoridades, residentes, enfermeras y personal de este hospital quienes juntos logran conformar una gran Institución

CONTENIDO

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	6
MARCO TEÓRICO.....	7
EL CANCER DE MAMA EN LA ACTUALIDAD	7
FACTORES DE RIESGO.....	7
ETIOLOGÍA Y PATÓGENESIS.....	11
CLASIFICACIÓN DEL CARCINOMA DE MAMA.....	13
FACTORES PRONÓSTICOS Y PREDICTIVOS	18
EL TNM.....	20
CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CANCER DE MAMA.....	23
CARCINOMA BASAL	24
CARCINOMA TRIPLE NEGATIVO.....	29
JUSTIFICACIÓN.....	30
OBJETIVOS	30
HIPÓTESIS	30
HIPÓTESIS NULA.....	31
DISEÑO DEL ESTUDIO.....	31
MATERIALES Y MÉTODOS	31
DEFINICIÓN DEL UNIVERSO.....	32
CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	32
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN	33
MÉTODO DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA	33
VARIABLES.....	33
CONSENTIMIENTO INFORMADO	36
RECURSOS	36

RECURSOS HUMANOS.....	36
RECURSOS MATERIALES.....	36
METODOS Y RESULTADOS.....	37
DISCUSIÓN.....	43
CONCLUSIONES.....	44
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	46
BIBLIOGRAFÍA.....	47

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Las técnicas de estudio histopatológico en la mama han sido complementados con el paso de los años, requiriendo para su evaluación no solo las características del examen morfológico; sino también, su perfil de expresión molecular en base a estudios de inmunohistoquímica (como el uso de anticuerpos contra receptores de estrógeno, progesterona y HER 2) que intervienen directamente en el pronóstico y tratamiento del paciente. Esto nos ha llevado a clasificar el carcinoma de mama no solo histológica sino molecularmente de acuerdo a su expresión genética. El objetivo de este estudio es buscar todos los casos de carcinoma ductal de mama diagnosticados en el Hospital Central Sur de Alta Especialidad de enero de 2005 a diciembre de 2010 que contengan los siguientes marcadores de inmunohistoquímica; RE(receptor de estrógeno), RP (receptor de progesterona), HER2 y que sean negativos clasificando a estos por clasificación molecular como triple negativo. De estos casos encontrados se realizaran los siguientes marcadores por inmunohistoquímica: CK 5/6, y CD 117 (C-kit), clasificando a los casos evaluados (de acuerdo a la clasificación molecular) como carcinoma subtipo basal a los que resulten positivos por lo menos a 1 de estos marcadores. Posteriormente se analizará la diferencia entre el carcinoma triple negativo y subtipo basal, utilizando se los siguientes puntos: edad, grado histológico, tamaño del tumor, cantidad de infiltrado linfoide, presencia o ausencia de permeación linfovascular, cantidad de desmoplasia producida por el tumor, tipo de bordes, cantidad de necrosis, estadio clínico al momento de diagnóstico, afectación a ganglios linfáticos, expresión de Ki67 y p53.

El presente estudio pretende responder a la siguiente pregunta de investigación:

De acuerdo a la clasificación molecular ¿Es el carcinoma subtipo basal histopatológicamente diferente al carcinoma que sólo es triple negativo, en los casos de carcinoma de mama de enero de 2005 a diciembre del 2010; en el servicio de Patología del HCSAE PEMEX?

MARCO TEÓRICO

EL CÁNCER DE MAMA EN LA ACTUALIDAD

El cáncer de mama es hoy en día la principal causa de muerte y discapacidad en el mundo en vías de desarrollo, en cuyos países se reportan 45% de nuevos casos. Con algunas notables excepciones, en la mayoría de las regiones de los países pobres la mortalidad por cáncer de mama también es muy alta y representa 55% de las muertes¹.

Las tasas de mortalidad por cáncer de mama en México muestran un aumento notorio en las últimas cinco décadas. Entre 1955 y 1960, a partir de la disposición de los primeros datos confiables, la tasa era alrededor de dos a cuatro muertes por 100000 mujeres. Luego se elevó de manera sostenida en las mujeres adultas de todas las edades hasta alcanzar una cifra cercana a 9 por 100000 para la mitad de la década de 1990 y se ha mantenido más o menos estable desde entonces.

Se ha documentado que el cáncer de mama representa una pesada carga de muertes prematuras, ya que 60% de las mujeres que muere tiene entre 30 y 59 años de edad. También existe cierta evidencia de que la edad promedio de inicio de la enfermedad es menor en los países en desarrollo que en los más desarrollados^{2,3}.

Así, las tasas de mortalidad ajustadas por edad (para la población mundial) muestran que la mortalidad por cáncer cervicouterino en las mujeres mexicanas superó la mortalidad por cáncer de mama en el periodo 1955-2005. A partir de 2006, el riesgo de morir por cáncer de mama excede el riesgo de morir por cáncer cervicouterino.⁴

FACTORES DE RIESGO

Se consideran los siguientes factores de riesgo:

- Edad: el cáncer de mama raramente se encuentra antes de los 25 años de edad, salvo en ciertos casos familiares. Así un 77% de los casos se producen en mujeres mayores de 50 años de edad; con una edad media de diagnóstico de 64 años.
- Menarca: las mujeres que tienen menarca con menos de 11 años de edad presentan un riesgo aumentado del 20% en comparación con las que inician con más de 14 años de edad.
- Primer nacimiento vivo: las mujeres con el primer embarazo a término con menos de 20 años de edad tienen la mitad de riesgo que las mujeres nulíparas o las mujeres que tuvieron el primer hijo con más de 35 años. Se plantea la hipótesis que el embarazo produce una diferenciación terminal de células epiteliales, eliminando el acumulo potencial de precursores de cáncer.
- Familiares de primer grado con cáncer de mama: el riesgo de cáncer de mama aumenta con el número de familiares en primer grado afectadas (madre, hija, hermana). Sin embargo la mayoría de casos se produce en mujeres sin antecedentes, ya que solo el 13% tienen un familiar en primer grado afectado y sólo un 1-2% dos o más, También más del 87% de las mujeres con antecedentes familiares no desarrollará cáncer.
- Biopsias de mama: cuando hay biopsias previas que muestran hiperplasia atípica.
- Raza: es menor en mujeres de origen afroamericano, las mujeres de este grupo se presentan en una fase más avanzada y tienen mayor mortalidad. Se diagnostica un mayor número de cáncer de mama en mujeres menores de 40 años de edad de raza negra que de raza blanca; también, tienen un grado nuclear más alto, con mayor frecuencia de carencia de receptores hormonales y mutaciones esporádicas del p53.
- Exposición a estrógenos: el tratamiento hormonal sustitutivo aumenta ligeramente el riesgo a desarrollar cáncer de mama en usuarias habituales.

Estrógenos y progesterona administrados en conjunto aumentan más el riesgo más que sólo el uso de estrógenos. Se ha descrito un aumento de carcinoma lobulillar invasor y otros carcinomas asociados. Es improbable que los anticonceptivos orales aumenten la incidencia de carcinoma⁵. La reducción de estrógenos endógenos con ooforectomía disminuye el riesgo de desarrollar un cáncer de mama hasta en un 75%.

- Exposición a radiaciones: las mujeres expuestas a radioterapia o a radiaciones después de la explosión de una bomba atómica tienen una mayor incidencia de cáncer de mama, y aumenta cuando la edad es menor o cuando la cantidad de exposición es mayor.
- Carcinoma de la mama contralateral o del endometrio.
- Influencia geográfica: las tasas de incidencia son 4 a 7 veces más altas en Europa y EU que en otros países.
- Dieta: se ha sugerido que la dieta grasa aumenta el riesgo, algunos estudios han demostrado un menor riesgo con la ingesta de B-carotenos. Otros estudios muestran que el consumo moderado o importante de alcohol conlleva a mayor riesgo de cáncer de mama.
- Obesidad: si son menores de 40 años tienen menor riesgo por la asociación de ciclos anovulatorios y niveles de progesterona más bajos a final del ciclo. Las mujeres mayores de 40 años tienen más riesgo atribuido a la mayor síntesis de estrógenos por el tejido adiposo.
- Ejercicio: algunos estudios han determinado un riesgo disminuido en mujeres premenopáusicas.
- Lactancia materna: cuanto más duradera es la lactancia mayor es la reducción del riesgo de cáncer.
- Toxinas medioambientales: no se han identificado sustancias específicas asociadas a un mayor riesgo.

Lesiones de mama y riesgo relativo de desarrollar un carcinoma invasor⁶			
<i>Lesión anatomopatológica</i>	<i>Riesgo relativo de desarrollar un carcinoma invasor</i>	<i>Mama con riesgo</i>	<i>Modificadores de riesgo</i>
Cambios no proliferativos de la mama Ectasia ductal, quistes, cambios apócrinos, hiperplasia leve, adenosis, fibroadenoma sin características complejas	1.0	Ninguna	
Mastopatía proliferativa sin atipía Hiperplasia moderada o florida, adenosis esclerosante, papiloma Lesión esclerosante compleja (cicatriz radial) Fibroadenomas con características complejas	1.5-2-0	Ambas	Mayor riesgo si existen antecedentes familiares de carcinoma de mama Menor riesgo 10 años después de la biopsia
Mastopatía proliferativa con atipía Hiperplasia ductal atípica, Hiperplasia lobulillar atípica	4-5	Ambas	Mayor riesgo si existen antecedentes familiares, mayor riesgo si premenopausia, menor riesgo 10 años después de la biopsia de una hiperplasia lobulillar atípica
Carcinoma in situ Carcinoma lobulillar in situ Carcinoma ductal in situ ¹	8.0-10.0	Ambas mamas ipsilateral	Tratamiento (tamoxifeno, mastectomía bilateral) Tratamiento (tamoxifeno, cirugía para erradicar la lesión, radioterapia)

¹ Este riesgo se aplica al carcinoma ductal in situ de bajo grado diagnosticado erróneamente como enfermedad benigna y controlada sin tratamiento. Se supone que el riesgo de progresión a carcinoma ductal in situ de alto grado es superior.

- Tabaco: no se asocia a cáncer de mama.

ETIOLOGÍA Y PATOGÉNESIS

Los cánceres de mama pueden dividirse en casos esporádicos, asociados posiblemente a exposición hormonal, y casos hereditarios asociados a antecedentes familiares o mutaciones de la línea germinal.

Cáncer de mama hereditario: se han descrito antecedentes familiares de cáncer de mama en un familiar de primer grado en el 13% de las mujeres afectadas. Alrededor del 25% de los cánceres familiares (o cerca del 3 % de todos los cánceres de mama) pueden atribuirse a 2 genes autosómicos dominantes de alta penetrancia: BRCA 1 y BRCA2. La probabilidad de tener cáncer de mama debido a una mutación de estos genes aumenta si existen múltiples familiares de primer grado afectados. El riesgo general de por vida de padecer un cáncer de mama en las portadoras es de 60-85% y la edad mediana del diagnóstico es 20 años antes en comparación con las mujeres que no presentan estas mutaciones. La penetrancia depende del tipo específico de mutación existente. El BRCA 1 también aumenta notablemente el riesgo de desarrollar un carcinoma de ovario que es de hasta 20-40%, el BRCA 2 conlleva un riesgo menor de desarrollar carcinoma de ovario (10-20%) pero se asocia más frecuentemente a carcinoma de mama masculina. Los portadores de ambas aberraciones son susceptibles de desarrollar otros cánceres como colón, próstata y páncreas en menor grado. Ambos genes actúan como supresores tumorales, así la pérdida de su función confiere un riesgo de malignidad. Una función clave parece ser la protección del genoma frente al daño al detener el ciclo celular y estimular la reparación del daño al DNA. BRCA 1 pero no BRCA 2 interactúan con los RE e interviene en la inactivación del cromosoma X, 2 características que pueden estar relacionadas con su riesgo específico de sexo.

En los carcinomas hereditarios se hereda un alelo mutante y el otro sufre una inactivación somática. Aunque las mutaciones se encuentran raramente en

los tumores esporádicos, alrededor del 50% tienen una expresión disminuida o ausente de BRCA 1. También se encuentra BRCA 1 asociado en el 67% de los tumores medulares y en el 55% de los mucinosos.

Los carcinomas de mama asociados a BRCA 1 suelen estar peor diferenciados, tienen un crecimiento sincicial con patrón de crecimiento expansivo, respuesta linfocítica y no expresan receptores hormonales ni HER2. Los carcinomas asociados a BRCA 2 no tienen algún aspecto morfológico en particular. Los resultados iniciales sobre el perfil de expresión génica han revelado que BRCA1 y BRCA 2y subtipos de cánceres esporádicos pueden identificarse sus patrones de expresión génica.

Los carcinomas esporádicos con un perfil RNAm similar a los carcinomas BRCA 1 se han denominado de **tipo basal** por la expresión de genes que son característicos de las células mioepiteliales o posibles células progenitoras de la mama.

Existen otras anomalías genéticas que son muy poco frecuentes; de esta manera todos los genes considerados juntos aún dejarán sin explicación al menos dos tercios del riesgo familiar. Un modelo poligénico en que varios o cientos de genes débilmente penetrantes actúan en combinación para crear un espectro de riesgo podría explicar la mayoría de los cánceres de mama familiares, además del riesgo en la población en general.

- Cáncer de mama esporádico: los factores de riesgo están relacionados con la interacción hormonal: sexo, edad de menarca, menopausia, historia reproductiva, lactancia materna, estrógenos exógenos y la mayoría sobreexpresan RE. Los estrógenos desempeñan al menos 2 papeles importantes: los metabolitos estrogénicos pueden producir mutaciones o generar radicales libres que dañan el DNA y a través de sus acciones hormonales dirigen la proliferación de lesiones premalignas y cánceres.

Mecanismos de la carcinogénesis: un modelo general de la carcinogénesis postula que una célula normal debe alcanzar 7 nuevas funciones, como la

inestabilidad genética para ser maligna. Cada una de las nuevas funciones puede alcanzarse por un cambio en uno de muchos genes; por ejemplo los cambios en RE, EGFR, RAS o HER 2. Las alteraciones morfológicas de la mama asociadas al aumento de riesgo menor son lesiones con un número mayor de células epiteliales (alteraciones proliferativas). Las características morfológicas y biológicas de los carcinomas normalmente se establecen en la fase in situ, ya que en la mayoría de los casos la lesión in situ se parece mucho al carcinoma invasivo acompañante. Los carcinomas de mama generalmente no se desdiferencian o se hacen peor diferenciados con el tiempo. Las alteraciones se acumulan en las células luminales y también se producen alteraciones paralelas por mutaciones o cambios epigenéticos, que producen una pérdida de interacciones celulares o de la arquitectura tisular normal. No se conoce bien la transición del carcinoma limitado por la membrana basal (in situ) a carcinoma invasor pero se cree que sucede por una función anómala de las células mioepiteliales y estromales más que de las células malignas.

Nuevas técnicas analizan cambios de DNA, RNA y proteínas en los carcinomas y no ha sido una sorpresa que los carcinomas RE positivos y negativos se separen en un grupo distinto. Múltiples genes pueden estar bajo el control transcripcional de los RE y ello se refleja por un grupo de genes comunes que muestran un aumento en su transcripción en estos carcinomas. Los carcinomas que son RE positivos también muestran aumento de la transcripción de genes denominados de tipo luminal ya que estos se expresan en la célula luminal normal y se relacionan con la mejor diferenciación de estos carcinomas.

CLASIFICACIÓN DEL CARCINOMA DE MAMA⁷.

Casi todos los tumores malignos de la mama son adenocarcinomas, los demás tipos (carcinoma epidermoides, tumor Filodes, sarcomas y linfomas), representan menos del 5% del total.

El carcinoma de mama se divide en carcinomas in situ (limitada a los conductos y lobulillos por la membrana basal, no invade ganglios linfáticos, vasos ni produce metástasis) y en carcinomas invasores o infiltrantes (cuando invade

más allá de la membrana basal hasta el estroma donde también puede invadir vasos sanguíneos, ganglios linfáticos regionales y causar metástasis a distancia). En la tabla 1 se presentan la distribución de los tipos histológicos del cáncer.

Distribución de los tipos histológicos del cáncer de mama	
Canceres totales	Porcentaje
CARCINOMA IN SITU	15-30
Carcinoma ductal in situ	80
Carcinoma lobulillar in situ	20
CARCINOMA INVASOR	70-85
Carcinoma ductal infiltrante	79
Carcinoma lobulillar	10
Carcinoma tubular/cribiforme	6
Carcinoma mucinoso	2
Carcinoma medular	2
Carcinoma papilar	1
Carcinoma metaplásico	<1

CARCINOMA INVASOR: casi siempre se presenta como una masa palpable. Para cuando el cáncer puede palparse casi la mitad de las pacientes tienen metástasis ganglionares. Los carcinomas más grandes pueden fijarse a la pared torácica o producir retracción de piel. Los ganglios linfáticos pueden afectarse hasta bloquear el área local de drenaje cutáneo y producir linfedema, engrosamiento de la piel conocido como piel de naranja. Cuando el tumor afecta la parte central de la mama puede producirse retracción del pezón. Con

mastografía se observa una zona de densidad que en promedio tienen la mitad de tamaño que un tumor palpable, menos del 20% tendrán metástasis ganglionares.

Raramente el cáncer de mama se presenta como una metástasis ganglionar axilar o a distancia. El número de casos de carcinomas primarios que siguen ocultos a pesar del empleo de mamografía, ecografía y RM para examinar la mama es bajo.

Tipos histológicos:

Carcinoma ductal infiltrante (NOS): incluyen la mayoría de carcinomas que no pueden clasificarse como otro subtipo. La mayoría de estos carcinomas son firmes, duros de bordes irregulares. En el centro del carcinoma existen focos pequeños o estrías de estroma con desmoplasia, blanco y ocasionalmente pequeños focos de calcificación. Al cortarlo o rasparlo se oye un sonido chirriante característico. Pocas veces tienen un borde bien delimitado o son blandos. Las características histológicas muestran una amplia gama de aspectos. Los tumores bien diferenciados consisten en conductos revestidos por células mínimamente atípicas y ocasionalmente puede ser difícil de diferenciarlos de lesiones esclerosantes benignas, estos típicamente expresan receptores hormonales y no expresan HER2. Otros están formados por sabanas anastomóticas de células pleomórficas y tienen menos probabilidades de expresar receptores hormonales y más de expresar HER 2. La mayoría de estos carcinomas inducen desmoplasia, provocando una zona de densidad mamográfica (carcinoma escirro). Se acompañan de carcinoma ductal in situ (CDIS), el grado de CDIS se correlaciona con el grado del carcinoma infiltrante. Los carcinomas asociados a una gran cantidad de CDIS requieren escisiones extensas con márgenes amplios para reducir recidivas.

Los estudios recientes para analizar el perfil transcripcional de estos cánceres han identificado subgrupos adicionales por perfil de expresión génica (clasificación molecular).

Carcinoma lobulillar invasor (infiltrante): suelen presentarse como una masa palpable o una zona de densidad mamográfica, alrededor de una cuarta parte de los casos tienen un patrón difuso de infiltración sin desmoplasia prominente y pueden producir cambios sutiles en la mamografía, también puede ser difícil detectar metástasis. Se creían que tenían mayor incidencia de bilateralidad pero se ha visto que la bilateralidad es del 5-10% similar al carcinoma ductal.

La principal característica histológica es el patrón de células infiltrantes en hilera, con una sola célula de anchura (fila india) o en grupos de sabanas poco cohesivas, la reacción desmoplásica puede ser mínima o no existir, las células en anillo de sello son comunes. Las células tumorales están con frecuencia dispuestas en anillos concéntricos alrededor de los conductos normales. Se han descrito diversas variantes como tumores con grandes nidos u un alto grado de pleomorfismo. Son normalmente diploides, expresan receptores hormonales y se asocian a CLIS (carcinoma lobulillar in situ), la sobreexpresión de HER 2 es muy rara. Los carcinomas lobulillares mal diferenciados son aneuploides, con frecuencia carecen de receptores hormonales y pueden sobreexpresar HER 2. Si se equiparan por grado y estadio los carcinomas lobulillares tienen el mismo pronóstico que los ductales. Tienen un patrón metastásico diferente en comparación con otros cánceres de mama. Las metástasis más frecuentes son al peritoneo y retroperitoneo, leptomeninges, tubo digestivo, ovario y útero.

Carcinoma medular: se presenta como una masa bien circunscrita y puede confundirse clínica y radiológicamente con un fibroadenoma. A veces existe historia de crecimiento rápido.

Estos tumores no tienen desmoplasia llamativa, por lo tanto son blandos a la palpación externa y al corte, tienen una consistencia blanda o carnosa y está bien circunscrito. Histológicamente se caracteriza por sabanas sólidas de tipo sincicial (que ocupan más del 75% del tumor) de células grandes con núcleos vesiculares pleomórficos que contienen nucléolos prominentes y frecuentes mitosis. También un infiltrado moderado a intenso de linfocitos y células

plasmáticas alrededor y dentro del tumor y un borde de crecimiento expansivo (no infiltrante). Todos los carcinomas medulares están mal diferenciados. El CDIS es mínimo o no existe. Nunca se halla una invasión linfática o vascular. Tienen un pronóstico ligeramente mejor a pesar de la presencia de múltiples factores de mal pronóstico: grado nuclear alto, aneuploidia, ausencia de receptores hormonales y proliferación alta. No se observan sobreexpresión de HER 2. Las metástasis ganglionares son infrecuentes y cuando las hay raramente afectan múltiples ganglios. El 67% son asociados a BRCA 1.

Carcinoma mucinoso (coloide): este tipo infrecuente (1-6% de todos los carcinomas de mama) se suele presentar también como masa circunscrita. Tiende a producirse en mujeres mayores y puede crecer lentamente durante varios años. Es un tumor extremadamente blando y tiene la consistencia y el aspecto de gelatina pálida gris azulada. Las células tumorales están agrupadas y en pequeñas islas de células en grandes lagos de mucina que empujan hacia el estroma adyacente. La mayoría son diploides y expresan receptores hormonales. El pronóstico global es ligeramente mejor que el de los carcinomas ductales. La incidencia de carcinomas mucinosos es ligeramente mayor que en mutaciones con BRCA1. El 55% de estos carcinomas poseen hipermetilación de BRCA1.

Carcinoma tubular: representan solo el 2% de todos los carcinomas de, representan el 10% de todos los carcinomas de menos de 1 cm de diámetro. Los carcinomas tubulares suelen detectarse como zonas de densidad mamográfica irregular. Se presentan en la segunda mitad de la década de los 40 años. Son multifocales en un 10-56% y bilaterales en 9-38%. Constan solo de túbulos bien formados y a veces se confunden con lesiones esclerosantes benignas; sin embargo no existe una capa de células mioepiteliales y las células tumorales son bien diferenciadas y están en contacto directo con el estroma. Pueden existir espacios cribiformes. Las protrusiones apócrinas son típicas y pueden existir calcificaciones intraluminales. Se asocia a CLIS. El 95% son diploides y expresan receptores hormonales, todos están bien diferenciados. Se producen metástasis axilares en menos del 10%. Tienen excelente pronóstico.

Carcinoma papilar invasor: son raros y representan menos del 1% de todos los carcinomas invasores. La arquitectura papilar se observa más comúnmente en el CDIS, la presentación clínica es similar al carcinoma ductal aunque tienen un mejor pronóstico.

Carcinoma metaplásico: incluye una amplia variedad de carcinomas raros (< 1%) como adenocarcinomas convencionales con estroma condroide, carcinoma de células escamosas, carcinomas con componente importante de células fusiformes que dificultan su diferenciación con sarcomas. Algunos de estos carcinomas expresan genes comunes con las células mioepiteliales y probablemente derivan de este tipo celular. Se sabe poco en cuanto al cuadro clínico y pronóstico.

FACTORES PRONÓSTICOS Y PREDICTIVOS

El pronóstico viene determinado por el examen anatomopatológico del carcinoma primario y los ganglios axilares. Este dato es importante para informar a las pacientes sobre la evolución y tratamiento de su enfermedad. Los principales factores pronósticos son los siguientes:

- Carcinoma invasor o enfermedad in situ: la mayoría de pacientes tratadas por un CDIS se curarán. Al menos la mitad de carcinomas invasores tendrán metástasis locales o a distancia al momento del diagnóstico.
- Metástasis a distancia: cuando existen metástasis a distancia la curación es improbable aunque pueden lograrse remisiones a largo plazo. El patrón de metástasis axilar o a distancia puede reflejarse en base a los patrones de expresión génica.
- Metástasis ganglionares: el estado de los ganglios axilares es el factor pronóstico más importante. Sin afectación la tasa de supervivencia libre de enfermedad a los 10 años se aproxima el 70-80%, la tasa disminuye hasta el 35-40-5 con una a tres adenopatías y de 10-15% con más de 10

adenopatías. Las macrometástasis (>0.2 cm) tienen importancia pronóstica.

- Tamaño tumoral: es el segundo factor pronóstico más importante y es independiente del estado de los ganglios linfáticos. Las mujeres con un tumor menor de 1 cm sin adenopatías tienen un pronóstico que se aproxima al de las mujeres sin cáncer. Más de la mitad de mujeres con cánceres mayores a 2 cm de diámetro tienen metástasis ganglionares y finalmente morirán.
- Enfermedad localmente avanzada.
- Carcinoma inflamatorio: pronóstico malo, la tasa de supervivencia a los 3 años es de 3-10%.

Factores pronósticos menores: se pueden utilizar para pacientes con afectación ganglionar y/o más de 1 cm de diámetro. En las mujeres con carcinomas pequeños y sin afectación ganglionar se utilizan para identificar a mujeres que con más probabilidad se beneficiaran de un tratamiento sistémico. Los 3 factores más útiles como factores predictivos de la respuesta al tratamiento son: receptores de estrógenos, progesterona y HER 2.

1. Subtipos histológicos.
2. Grado histológico: por medio de la escala de Scarff Bloom Richardson (SBR).
3. Receptores de estrógenos y progesterona.
4. HER 2.
5. Invasión linfovascular: es un factor de mal pronóstico en mujeres sin adenopatías.
6. Tasa de proliferación: los tumores con altas tasas de proliferación tienen un peor pronóstico.

7. Cantidad de contenido de DNA.

EL TNM

Otra herramienta útil enfocada hacia el manejo clínico, decisión terapéutica (primaria o adyuvante), evaluación tras tratamiento o pronóstico y, unificación de criterios para proyectos de investigación es el sistema TNM; un método de estadiaje de neoplasias desarrollado por la AJCC (American Joint Committee on Cancer) en colaboración con la UICC (Unión Internacional Contra Cáncer). Esta escala toma en cuenta las características del tumor primario (tamaño y extensión), ganglios regionales (número y extensión de la diseminación) y la presencia o ausencia de metástasis distantes, la combinación de estos parámetros nos genera un estadio. Cada región anatómica tiene un sistema TNM en específico, siendo lo siguiente el TNM actual para el cáncer de mama:

Tumor primario (T)

Tx: No determinado.

T0: Sin evidencia de Tumor primario (no palpable).

Tis: Carcinoma *in situ*.

Tis (DCIS) Carcinoma ductal *in situ*.

Tis (LCIS) Carcinoma lobulillar *in situ*.

Tis (Paget) Enfermedad de Paget del pezón no asociada a masa tumoral.

Nota: La enfermedad de Paget asociada con tumor se clasifica de acuerdo al tamaño del tumor.

T 1: Tumor menor de 2 cm en su diámetro mayor.

T1 mic Microinvación 1 cm en su diámetro mayor.

T1a Tumor > 0,1 cm, pero no > 0,5 cm en su diámetro mayor.

T1b Tumor > 0,5 cm, pero no > 1,0 cm en su diámetro mayor.

T1c Tumor > 1,0 cm, pero no > 2,0 cm en su diámetro mayor.

T 2: Tumor > 2 cm, pero no > 5 cm en su diámetro mayor.

T 3: Tumor > 5 cm en su diámetro mayor.

T 4: Tumor de cualquier tamaño:

1. Con extensión directa a la pared del tórax (pared del tórax comprende costillas, músculos intercostales y Serrato mayor, no el Pectoral Mayor y su aponeurosis).
2. Con compromiso de piel (edema, ulceración o nódulos satélites de la piel confinados a la mama).
3. a + b.
4. Carcinoma Inflamatorio.

Nota.- La retracción de la piel, del pezón u otro cambio que ocurra en T1, T2 o T3 no cambia la clasificación.

Compromiso de ganglios regionales (N)

N x: no evaluados.

N 0: ausencia de adenopatías palpables.

N 1: metástasis axilares homolaterales móviles palpables.

N 2: metástasis axilares homolaterales fijas o metástasis en mamaria interna homolaterales detectables por estudios de imágenes ó detectables por examen clínico, en ausencia de evidencia clínica de metástasis en ganglios axilares.

N2a: metástasis en ganglios axilares homolaterales fijos entre sí o a otras estructuras.

N2b: metástasis en mamaria interna homolateral detectables por estudios de imágenes ó examen clínico, en ausencia de evidencia clínica de ganglios metastásicos axilares.

N 3: metástasis en ganglios infraclaviculares homolaterales o metástasis en ganglios de mamaria interna homolaterales detectables por estudios de imágenes o examen clínico y la presencia de evidencia clínica de metástasis en ganglios axilares; o metástasis en ganglios supraclaviculares homolaterales, con o sin compromiso de ganglios axilares o de mamaria interna.

N3a: metástasis en ganglios infraclaviculares homolaterales y ganglios axilares.

N3b: metástasis en ganglios homolaterales de mamaria interna y ganglios axilares.

N3c: metástasis en ganglios supraclaviculares.

Metástasis a distancia (M)

M x: no evaluadas

M 0: sin metástasis demostrables

M 1: metástasis presentes (incluso adenopatías supraclaviculares)

Estadios en cáncer de mama (TNM):

Estadio 0	Tis N0 M0
Estadio I	T1 N0 M0
Estadio II A	T0 N1 M0 T1 N1 M0 T2 N0 M0
Estadio II B	T2 N1 M0 T3 N0 M0
Estadio III A	T0 N2 M0 T1 N2 M0 T2 N2 M0 T3 N1 M0 T3 N2 M0.
Estadio III B	T4 N0 M0 T4 N1 M0 T4 N2 M0
Estadio III C	Cualquier T, N3 M0
Estadio IV	Cualquier T, cualquier N, M1.

CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CÁNCER DE MAMA

Una nueva aproximación al pronóstico es el perfil de expresión génica. Por ejemplo se utilizaron los cambios en 70 marcadores de genes para clasificar los tumores según el buen o mal pronóstico, y se observó que eran más predictivos del pronóstico que los indicadores tradicionales⁸.

En las últimas 2 décadas el estudio de inmunohistoquímica ha permitido mejorar el pronóstico debido a la detección de neoplasias hormonodependientes, traslocaciones específicas, o sobreexpresión genética con lo que se obtienen tratamientos dirigidos, entre estos ejemplos se encuentran el uso de anticuerpos para receptores de estrógenos, progesterona o la valoración de factores de crecimiento como el HER 2 por medio de inmunohistoquímica.

Los receptores de estrógeno (RE) exhiben una gran afinidad para sus ligandos. Los RE humanos son el α y el β teniendo alto grado de homología en sus ligandos de DNA. Sin embargo los 2 tienen diferentes caminos de señalización, el ER β no potencializa la transcripción para el factor AP-1 y ER α sí.

El Her 2^{9,10} es una tirosin-cinasa transmembrana que pertenece a la familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) que están relacionados directamente con el crecimiento, diferenciación y supervivencia celular. El gen que codifica el Her2 se encuentra en el cromosoma 7q21. La amplificación del gen tiene como resultado la sobreexpresión de Her2, que se puede corroborar por medio de anticuerpos monoclonales de ratón anti-Her2 usado para inmunohistoquímica, si el tejido estudiado es positivo se observará una reacción positiva sobre la membrana citoplasmática. Existen tejidos no neoplásicos que son positivos como hígado, cerebelo, amígdalas o páncreas. La mama normal es negativa. De esta manera Her2 se considera POSITIVO (3+) si la tinción es completa e intensa de membrana en las células tumorales infiltrantes en > 30 %, NO CONCLUYENTE (2+) si la tinción completa leve-moderada de membrana en las células tumorales infiltrantes en > 10 % y NEGATIVO (0 / 1+) si hay ausencia de tinción o la tinción es débil e incompleta en la membrana. Para

el caso no concluyente es necesaria la valoración de copias del gen por medio de FISH.

Actualmente se han podido valorar las neoplasias en base a su expresión genética, esto gracias a la utilización de microarreglos del ADN. A diferencia de los ensayos tradicionales de inmunohistoquímica que demuestran solo la expresión solo de RE y su gen regulador los perfiles de RNAm (microarreglos) aportan información sobre los otros genes regulados por los RE. De esta manera en los últimos años se ha utilizado un nuevo sistema de clasificación molecular del cáncer de mama en base al perfil genético y los resultados clínicos¹¹.

Esta clasificación se divide en 2 grupos basados en la presencia de expresión genética de receptores de estrógeno (RE) y de genes relacionados a este. El primer grupo a su vez tiene 2 subtipos el luminal A y el luminal B. El luminal A tiene alta expresión de genes relacionados con receptores de estrógenos y baja expresión de genes relacionados con la proliferación celular comparados con el luminal B¹².

El segundo grupo que se divide en 2 subtipos: HER 2 positivos y subtipo basal¹³.

El primer subtipo se caracteriza por tener sobreexpresión de HER 2 (que histológicamente suelen estar mal diferenciados) y su perfil de expresión génica revela que no solo hay copias aumentadas de éste, sino que también hay otros genes adyacentes que están multiplicados en este segmento de DNA.

CARCINOMA BASAL

El subtipo basal se caracteriza por tener Receptores de Estrógenos (RE), Receptores de Progesterona (RP) y HER 2 negativos y son positivos por lo menos para uno de los siguientes marcadores: Receptores de Factor de crecimiento epidérmico (EGFR), citoqueratinas 5/6 (CK5/6), C-kit (CD117) y p63; que son los marcadores encontrados en las células epiteliales basales y células mioepiteliales de la mama normal (de aquí su designación de “tipo basal”). Además de la expresión de queratinas específicas también expresan otros genes

comunes con las células mioepiteliales (por ejemplo E-cadherina) y numerosos genes relacionados con la proliferación celular. Este grupo de carcinomas no expresan genes relacionados a RE o HER2. Los carcinomas que aparecen en mujeres con mutaciones en BRCA 1 también entran en este grupo ya que tampoco expresan HER2, RE ni sus otros genes acompañantes. Sin embargo muchas mujeres que presentan el subtipo basal no tienen mutaciones en BRCA1. Cuando el carcinoma de mama posee un inmunofenotipo RP, RE y Her 2 negativo el 80 al 90% tendrán un inmunofenotipo basal^{14, 15} con un comportamiento biológico similar.

Nielsen et. al. Han identificado este subtipo basal en base a 4 marcadores ER y HER 2 negativos y CK 5/6 y/o EGFR positivo comparándolos con el estándar de Oro que son los microarreglos de ADN. En su estudio este panel mostró sensibilidad del 76% y especificidad del 100% para identificar carcinoma con inmunofenotipo basal. Otros criterios han sido utilizados como “ER, PR, HER2-negativos y CK5/6 and/or EGFR-positivos, ER-negativo, HER2-negativo y CK6 y/o P-cadherina y/o p63 positivos”, otros marcadores han sido incluidos como C-kit y P63^{16, 17} que han sido positivos en 45 y 61 % de los casos¹⁸.

Se ha reportado que 18 al 37 % de los casos de carcinoma de mama son de inmunofenotipo basal, la edad de mayor presentación oscila entre los 47 y 55 años aunque no es raro que se encuentre en pacientes más jóvenes. La mayoría son ductales, aunque también la mayoría los carcinomas de tipo metaplásico y medular presentan este inmunofenotipo. Del 75-100 % son de grado histológico 3 , teniendo características morfológicas comunes como: marcado pleomorfismo nuclear , relación núcleo citoplasma aumentada, cromatina vesicular (65%), nucléolo prominente, ausencia de formación tubular, alto índice mitótico (100%), células apoptóticas frecuentes, escaso estroma, bordes empujantes (61%), necrosis central, geográfica o tipo comedo (74%), infiltrado linfocitario (56%) , elementos metaplásicos como células ahusadas o metaplasia de células escamosas, proliferación glomeruloide microvascular, figuras mitóticas frecuentes de 25 a 40 por 10 campos de alto poder (100%)¹⁹⁻²⁰. También existe rápido

crecimiento. No existe asociación comprobada entre la positividad o negatividad de los ganglios en este tipo de neoplasia.

Este tipo de neoplasia está asociada a un pobre pronóstico en muchos estudios ya que se relaciona a con una presentación agresiva, desarrollo de recurrencias y metástasis distales, corto periodo de sobrevivencia después del diagnóstico y alta mortalidad. Algunos reportes han demostrado que la sobrevivencia y la recaída ocurre en los primeros 3-5 años^{21, 22}.

Este subtipo también se relaciona con el gen BRCA 1. Se ha observado que los tumores originados a partir de mutaciones de BRCA 1 tienen alto grado histológico, además de expresar CK 5/6 en adición con otros marcadores comúnmente vistos en el subtipo basal como EGFR. También se ha encontrado su relación con anomalías en p53 (gen de supresión tumoral) y moderada positividad en Ki67 (un marcador de proliferación celular).

El ki67²³ es una proteína que es asociada y puede ser necesaria para la proliferación celular, de esta manera es asociada con la transcripción del RNA ribosomal. La inactivación de Ki 67 da por resultado la inhibición de la síntesis de RNA ribosomal. Durante la interfase el ki67 puede ser detectado en el núcleo celular. Ki67 se encuentra presente en casi todas las fases del ciclo celular (G1, G2, S y mitosis) excepto en G0. El porcentaje de positividad en neoplasias a sido correlacionado con el curso clínico, sobre todo en neoplasias cerebrales, prostáticos y de mama.

El gen p53 o tp53, se encuentra en el brazo corto del cromosoma 17 (17p13) y codifica un factor de transcripción nuclear de 43.7 KDa. Su nombre hace referencia a su masa molecular aparente: 53 KDa. Resulta esencial para inducir la respuesta de la célula ante el daño del ADN, deteniendo el ciclo celular en caso de mutación. El gen p53 es un gen supresor tumoral que desempeña un papel importante en apoptosis y control del ciclo celular. Un p53 defectuoso podría permitir que las células anormales proliferen dando por resultado cáncer (alrededor de un 50 % de todos los tumores humanos contienen mutaciones en

p53). Pertenece a una familia de factores de transcripción, a la cual pertenecen también p63 y p73. Estas tres proteínas colaboran en una compleja red de interacciones que aún no se conoce en su totalidad. Sin embargo, p53 es ubicuo (se expresa en todos los tejidos), mientras que p63 y p73 presentan especificidad tisular. Además, parece que todos ellos presentan isoformas, algunas de las cuales funcionan como activadoras, mientras que otras funcionan como negativas dominantes. Si una célula pierde la función de p53, el daño en el ADN no se repara, se acumula en las células hijas y éstas entran directamente en la ruta hacia la génesis tumoral. El p53 tiene varias funciones importantes:

- Detención del ciclo celular en el punto de control G1/S o G2/M mediada por p53, cuando se reconoce el daño en el ADN, para evitar su replicación. Puede considerarse la respuesta principal cuando se produce daño en el ADN. La detención del ciclo celular en la transición G1/S se debe a la transcripción dependiente de p53 del inhibidor de CDKs denominado CDKN1A/p21. p21 inhibe los complejos CDK-ciclina y evita la fosforilación de pRb, de manera que el factor de transcripción E2F permanece inactivo, y se impide la progresión de la célula hacia la fase S (de síntesis del ADN). Esta "pausa" en la progresión del ciclo celular da tiempo a reparar los daños producidos en el ADN.
- Activa las enzimas de reparación del ADN para corregir los daños detectados. Uno de sus genes diana transcripcionales, *p53R2*, codifica para una reductasa de ribonucleótidos, que es importante en la replicación y reparación del ADN. p53 también interacciona directamente con la endonucleasa AP y la ADN polimerasa que están implicados en la reparación por escisión. p53 también induce ciertas proteínas, como GADD45 (por *growth arrest and DNA damage*) que colaboran en la reparación del ADN. Si el daño se repara correctamente, p53 estimula la síntesis de Mdm2, activando su autodestrucción y la progresión en el ciclo celular. Si el daño no puede ser reparado, la célula puede entrar en apoptosis o en senescencia, ambos inducidos por p53.

- Iniciación del proceso de senescencia, que es una parada permanente en el ciclo celular, caracterizada por cambios específicos en la morfología y en la expresión génica, que la diferencian de la quiescencia o parada celular reversible. La entrada en senescencia requiere la activación de p53 y/o pRb y la expresión de mediadores como inhibidores de CDK, y suele ser irreversible. Los cambios que se producen no se comprenden aún en su totalidad, pero parecen implicar modificaciones epigenéticas de la cromatina, como la formación de bloques de heterocromatina en diferentes locus, como los genes activadores de la proliferación regulados por E2F. Como todas las respuestas mediadas por p53, la entrada en senescencia puede inducirse por la presencia de diferentes tipos de estrés, como hipoxia, acortamiento de los telómeros o señalización oncogénica.
- La entrada en apoptosis es el último mecanismo protector, si el daño en el ADN es irreparable, para evitar la proliferación de las células que contienen ADN anormal. p53 activa la expresión de genes pro-apoptosis, como BAX o PUMA. Sin embargo, no está claro cómo decide la célula si debe reparar su ADN o entrar en apoptosis. Parece que p53 presenta mayor afinidad por los promotores de los genes de reparación del ADN que por los promotores de los genes pro-apoptosis, de manera que primero se activa la reparación del ADN. Pero si ésta no es efectiva y p53 continúa acumulándose, se activarían los genes pro-apoptosis.

La comparación del pronóstico entre las neoplasias que son RE positivos y los de subtipo basal es muy diferente ya que los primeros son menos agresivos, su recidiva es menor y existe tratamiento dirigido a base de hormonoterapia y quimioterapia. Si comparamos a los tumores HER 2 positivos muestran resultados y pronósticos similares sin embargo existe tratamiento blanco a base de trastuzumab y/o lo que mejora la sobrevida. Para las neoplasias que tienen un inmunofenotipo basal no existen tratamiento dirigido, la respuesta a quimioterapia es variable y actualmente están en fase 2 el cetuximab (terapia blanco que actúa al bloquear el EGFR), solo ó combinado con carboplatino para los carcinomas

triple negativo. También se ha evaluado el uso de antracíclicas con pobres resultados tanto en los carcinomas triple negativo como en los de subtipo basal.

CARCINOMA TRIPLE NEGATIVO²⁴

El cáncer de mama triple negativo se define por su falta de expresión a receptores de estrógeno, receptores de progesterona y receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2. Representa 15% de todos los cánceres de mama y son más frecuentes en mujeres premenopáusicas afroamericanas. Tiene distintas características moleculares, histológicas y clínicas, que incluyen particularmente el mal pronóstico a pesar de su alta sensibilidad a la quimioterapia estándar. Se ha asociado con el llamado cáncer de mama tipo basal por todas las similitudes que guardan entre sí; sin embargo, no son sinónimos, por lo que siguen haciéndose esfuerzos para poder diferenciarlos con técnicas rutinarias de Patología.

Los cánceres de mama de tipo basal (BCBL) representan 15 a 20% de todos los cánceres de mama. Muchos piensan que los términos BCBL y cáncer de mama triple negativo (BCTN) son sinónimos por las similitudes que guardan entre sí, pero no todos los cánceres de mama de tipo basal son triple negativo, ni tampoco, todos los triple negativo consisten en el subtipo biológico basal. Por ejemplo, de 15 a 45% de los cánceres de mama de tipo basal han expresado RE y 14% expresan HER-2, de 16 a 44% de los cánceres de mama triple negativo son negativos para todos los marcadores basales 7.3% de los cánceres de mama no triple negativo los expresan, y 71% de los cánceres de mama triple negativo son positivos para al menos un marcador basal, y la expresión de EGFR puede encontrarse en 57% de los cánceres de mama de tipo basal pero solo en 8% de los cánceres de mama no basal. Además, se demostró que los subtipos moleculares no son el reflejo de estos parámetros clínicos, lo que le da más peso al argumento de que el cáncer de mama basal y el triple negativo no son mutuamente excluyentes.

JUSTIFICACIÓN

En el servicio de Patología se diagnostican alrededor de 100 a 130 casos anuales de carcinoma de mama, de los cuales el 15 a 20% son triple negativo y no se sabe cuáles de estos tienen un perfil de células basales.

Existen pocas revisiones sobre este tema en el país, resalta una realizada solo con 56 pacientes. Se han realizado varios estudios a nivel internacional ninguno de estos en población con características similares a las de nuestro país, con la realización de este proyecto se buscaría analizar la similitudes o diferencias que existen entre el carcinoma de de subtipo basal y el triple negativo. Todavía no existen un tratamiento dirigido bien evaluado en estos casos; sin embargo la importancia de diagnosticarlo radica en el tipo de tratamiento, pronóstico y la sobrevida que tendrán.

OBJETIVOS

Evaluar las diferencias entre los carcinomas triple negativo y los carcinomas subtipo basal utilizando los siguientes parámetros: expresión de Ki67 y p53, tamaño del tumor, edad, grado histológico, , cantidad de infiltrado linfoide, presencia o ausencia de permeación linfovascular, cantidad de desmoplasia producida por el tumor, tipo de bordes, cantidad de necrosis, estadio clínico al momento de diagnostico, afectación a ganglios linfáticos,; en los casos de enero de 2005 a diciembre del 2010, en el servicio de Patología del HCSAE PEMEX.

HIPÓTESIS

De Acuerdo a los parámetros utilizados (expresión de Ki67 y p53, tamaño del tumor, edad, grado histológico, cantidad de infiltrado linfoide, presencia o ausencia de permeación linfovascular, cantidad de desmoplasia producida por el tumor, tipo de bordes, cantidad de necrosis, estadio clínico al momento de diagnostico, afectación a ganglios linfáticos,) hay una diferencia estadísticamente significativa entre los carcinomas triple negativos y los de subtipo basal; en los

casos de enero de 2005 a diciembre del 2010, en el servicio de Patología del HCSAE PEMEX.

HIPÓTESIS NULA

De Acuerdo a los parámetros utilizados (expresión de Ki67 y p53, tamaño del tumor edad, grado histológico, , cantidad de infiltrado linfoide, presencia o ausencia de permeación linfovascular, cantidad de desmoplasia producida por el tumor, tipo de bordes, cantidad de necrosis, estadio clínico al momento de diagnostico, afectación a ganglios linfáticos,) no hay una diferencia estadísticamente significativa entre los carcinomas triple negativos y los de subtipo basal; en los casos de enero de 2005 a diciembre del 2010, en el servicio de Patología del HCSAE PEMEX.

DISEÑO DEL ESTUDIO

- Observacional.
- Transversal.
- Serie de casos.
- Retrolectivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Por medio del sistema electrónico de Patología se buscaron todos los casos diagnosticados como carcinoma ductal infiltrante de mama y se seleccionaron los casos que tuvieron negativos los siguientes 3 marcadores de inmunohistoquímica; HER2, RE y RP, independientemente de que el Ki67 o p53 fueran positivos. Se seleccionaron todos los casos triple negativo (HER2, RE y RP negativos) y se realizaron citoqueratina 5/6 (CK5/6) y C-kit (CD 117), además de completar el Ki 67 y/o p53, valorando para estos casos 4 reacciones de inmunoperoxidasa. Se evaluaron, como positivas o negativas, con el porcentaje de positividad para las últimas 2. De acuerdo a las revisiones el criterio para

señalar a cada caso como inmunofenotipo basal será aquel que tenga por lo menos 1 de estas 2 pruebas de inmunohistoquímica positivas (CK 5/6 y/o C-kit) además de valorar algunos parámetros morfológicos con HE (tinción de hematoxilina-eosina). Al seleccionar los casos positivos se revisó cada caso para evaluar las características siguientes: tamaño del tumor, grado histológico de acuerdo a la escala SBR, porcentaje de desmoplasia, característica de los bordes, porcentaje de la necrosis, cantidad de infiltrado inflamatorio, infiltración linfovascular, positividad o negatividad de metástasis a ganglios linfáticos y estadio clínico en el momento del diagnóstico.

DEFINICIÓN DEL UNIVERSO

Casos con diagnóstico de carcinoma ductal infiltrante de mama en el servicio de Patología del Hospital Central Sur en el periodo entre enero del 2005 a diciembre del 2010.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Todos los casos con diagnóstico de carcinoma ductal infiltrante de mama marcados con inmunohistoquímica y que hayan sido negativos para RE, RP y HER-2.

Todos los casos con diagnóstico de carcinoma ductal infiltrante de mama que sean del género femenino.

Todos los casos seleccionados deberán tener bloques de parafina con tumor representativo en el servicio de Patología, independientemente que sea primario de la mama y/o metástasis ganglionar

Todos los casos con diagnóstico de carcinoma ductal infiltrante de mama con acceso al expediente electrónico y/o de papel para la búsqueda del Estadio Clínico (EC).

Todos los casos seleccionados deberán tener en el servicio de Patología el registro del diagnóstico con la evaluación de los marcadores de RE, RP y HER-2.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN

Casos de carcinoma ductal infiltrante de mama en pacientes del género masculino

Casos que no tengan bloques de parafina

Bloques de parafina que no tengan tejido con tumor representativo

Todos los casos en donde la calidad del tejido no permita realizar nuevos marcadores

Que el tumor sea tan pequeño que no sea evaluable

Casos en donde el diagnóstico sea de un carcinoma ductal infiltrante pero al rebajar el bloque solo se tenga componente in situ.

MÉTODO DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA

No probabilístico por conveniencia: Se seleccionaran aquellos casos que están disponibles en la población del HCSAE del servicio de Patología.

VARIABLES

Independientes:

Inmunofenotipo basal y no basal

Carcinomas con Inmunofenotipo basal: designado de esta manera cuando por los menos 1 de los siguientes marcadores de inmunohistoquímica sean positivos;

- Valoración de CK 5/6: localización de la reacción, citoplásmica. Escala de valoración positivo (1) o negativo (2).
- Valoración de CD 117: localización de la reacción, citoplásmica. Escala de valoración positivo (1) o negativo (2)

Dependientes:

Edad: medición en años.

La valoración de p53 y Ki 67 se realizó en el 100% de las muestras.

Valoración de p53: de acuerdo al porcentaje de positividad nuclear en las células neoplásicas, para análisis estadístico se considerarán como 1 (0-50%) y 2 (51 al 100%).

Valoración de Ki 67: de acuerdo al porcentaje de positividad nuclear en células neoplásicas, para análisis estadístico se considerarán como 1 (0-20%), 2 (21-60%) y 3 (61 al 100%)

Nota: en diversos estudios se ha documentado que para los casos de neoplasias malignas en la mama la positividad de este marcador por arriba del 20% de las células neoplásicas se vuelve estadísticamente significativo.

Tamaño del tumor: en cm, utilizando el diámetro mayor de éste.

Grado: Por medio del sistema de Scarff Bloom Richardson se obtienen 3 grados en base al puntaje obtenido de la valoración de tres parámetros: formación tubular, grado nuclear, cuantificación del número de mitosis.

El grado 1= 3 a 5 puntos, grado 2=6 a 7 puntos, grado 3= 8 a 9 puntos.

Formación de túbulos:

1 punto: formación tubular en más del 75% del tumor.

2 puntos: formación tubular del 10 al 75% del tumor.

3 puntos: formación tubular en menos del 10% del tumor.

Pleomorfismo nuclear:

1 punto: núcleo con variación mínima de forma y tamaño.

2 puntos: núcleo con variación moderada de forma y tamaño.

3 puntos: núcleo con variación marcada de forma y tamaño.

Conteo de mitosis:

Se deben de valorar 10 campos de alto poder (40x) en las áreas más celulares del tumor. Las células en profase no se deben de contar.

1 punto: 0-5 mitosis

2 puntos: 6-10 mitosis

3 puntos: más de 11 mitosis.

Necrosis:

Se valoró de acuerdo al porcentaje, asignando un valor; 1 (del 0 al 25%) y 2 (26% o más).

Nota: solo un caso presentó más del 50% de necrosis.

Infiltrado inflamatorio crónico:

De acuerdo a la proporción de células inflamatorias de tipo crónico en relación al total de población neoplásica, se asignó un grado; 1 (0-50%) y 2 (51 al 100%).

Permeación linfovascular:

Evaluado en cortes histológicos de la neoplasia y se asignó como 1 (presente) y 2 (ausente).

Desmoplasia:

Evaluada de acuerdo a la presencia de está en relación a la neoplasia en las áreas más representativas del tumor y se asignó como 1 (leve a moderada) y 2 (severa).

Bordes de la neoplasia:

Se asignó como 1 (bordes empujantes) y 2 (bordes infiltrantes).

Ganglios linfáticos:

Se asignó como positivos o no a metástasis; 1 (positivos) y 2 (negativos).

Estadio Clínico: en base al expediente clínico electrónico o de papel, desde el estadio 1 al 4 de acuerdo a la clasificación actual del TNM.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

No es necesario el consentimiento informado de los pacientes debido a que se trabaja con bloques de parafina con carcinoma de mama ya diagnosticados en donde el caso quedó completo, debido a que solo se utilizó un fragmento de tumor. Se realizó un escrito donde se redactó el uso de bloques de parafina para la elaboración de este estudio.

RECURSOS

RECURSOS HUMANOS

Médicos residentes.

Técnicos capacitados para la realización de inmunohistoquímica.

Médicos patólogos Adscritos del servicio de Patología.

Médico con maestría y/o diplomado en estadística.

RECURSOS MATERIALES

Sistema de cómputo del servicio de Patología.

Sistema electrónico del servicio de Patología.

Concentrado de diagnósticos por topografía/morfología (mama/ carcinoma ductal infiltrante) de todos los casos diagnosticados en el servicio de Patología entre enero del 2005 y diciembre del 2010.

Bloques de parafina y laminillas de los casos correspondientes.

Reactivos de inmunohistoquímica y anticuerpos monoclonales específicos: CK 5/6, CD 117, Ki 67 y p53.

Microscopio de luz.

Manual de interpretación de marcadores de inmunohistoquímica.

Escala de evaluación para cada uno de los marcadores.

Sistema de cómputo para compilar la información y software para crear y analizar las base de datos (Excel y SPSS versión 10).

MÉTODOS Y RESULTADOS

Las variables de estudio se obtuvieron del instrumento de recolección de datos capturándose en una base de datos en el programa de cómputo EXCEL. Posteriormente a cada variable se le asignó un valor y se codificó del 1 a 2 o de 1 a 3 dependiendo de la evaluación de cada variable (ver sección de variables).

Se analizaron las variables por medio de la prueba de Chi cuadrada con los siguientes resultados en donde en todos los parámetros se separan los casos de carcinoma de tipo basal versus los de tipo no basal, se comentan inicialmente los parámetros de inmunohistoquímica y posteriormente los parámetros histológicos.

En el servicio de Patología desde enero del 2005 a diciembre del 2010 se encontraron 544 (100%) casos diagnosticados como carcinoma ductal infiltrante. De estos; 122 casos (22%), son carcinomas triple negativo. Aplicando los criterios de eliminación y exclusión se eliminaron 61 (11%) casos. Los 61 casos restantes (11%) cumplían los criterios de inclusión y se consideraron para este estudio (**ver gráfico 1**).

Los casos incluidos en el estudio tuvieron una edad promedio de 55 años, siendo el paciente más joven de 26 años y la de edad más avanzada de 87 años.

Durante la revisión de los expedientes clínicos se encontró el fallecimiento de 7 de estos casos.

En el tratamiento de estas pacientes se utilizó quimioterapia, cirugía y se consolidó con radioterapia; en menor porcentaje se implementó radioterapia seguida de cirugía. La mayoría de los pacientes recibió en el esquema de quimioterapia un combinado de doxorubicina o epirrubicina, fluorouracilo y ciclofosfamida, posteriormente se dio radioterapia con un máximo de 5000Gy en 25 sesiones.

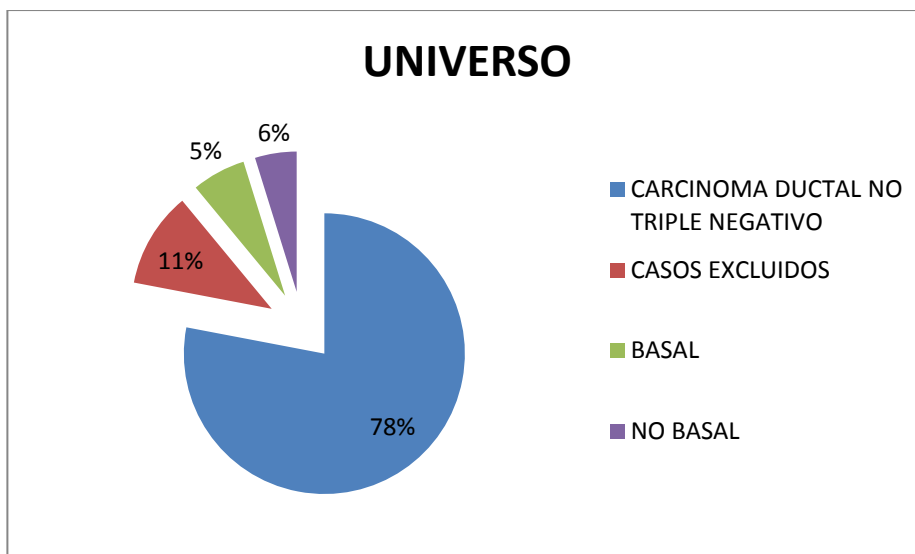


Gráfico 1: características de la población estudiada

De los 61 casos seleccionados, 4 fueron carcinomas metaplásicos, y 2 carcinomas medulares, los 6 casos fueron inmunofenotipo no basal. Dentro de los antecedentes familiares sólo dos casos tuvieron antecedentes de un familiar en primer grado con cáncer de mama. Dos casos tenían antecedente de una neoplasia maligna previa.

A todos los casos se les realizaron los siguientes marcadores: CK 5/6, CD 117, p53, Ki 67. De estos; CD 117 y CK 5/6 fueron utilizados para inmunotipificar a los carcinomas de células basales y diferenciarlos de los triple negativo sin inmunofenotipo basal (no basales). La mayoría de los casos estudiados con CK5/6 presentaron testigo interno positivo, y en el 100% de los casos los marcadores tuvieron testigo externo positivo. Así, 27 (5%) casos fueron positivos a uno o dos de los marcadores que caracterizan al carcinoma como inmunofenotipo basal (16 casos que fueron positivos para CD 117 y 15 para CK 5/6 y 4 de estos casos fueron positivos para ambos marcadores), los 34 (6%) restantes fueron negativos **(ver gráfico 1)**.

Los marcadores; p53 y Ki67 que corresponden a marcadores pronósticos se realizaron a todos los casos.

Para los casos evaluados con p53 (**ver tabla 1**):

Con expresión del 0 al 50%; se observó que el 59.3% de los carcinomas basales eran positivos y en los no basales fueron positivos en un 45.5%.

Con expresión de más 50%; se observó que el 40.7% de los carcinomas basales eran positivos y en los no basales fueron positivos en un 54.5%.

Para los casos con marcados con Ki67 (**ver tabla 1**):

Con expresión del 0 al 20%; se encontró que el 30.8 % de los carcinomas basales eran positivos y en los no basales fueron positivos en un 31.3%.

Con expresión del 21 al 60 %; se encontró que el 34.6% de los carcinomas basales eran positivos y en los no basales fueron positivos en un 40.6%,

Con expresión de más del 60%; se encontró que el 34.6 % de los carcinomas basales eran positivos y en los no basales fueron positivos en un 28%

Al evaluar el Estadio clínico (**ver tabla 1**) se encontró que:

El 75% de los carcinomas basales se ubicó en EC 2, al igual que los carcinomas no basales

El 20% de los carcinomas basales y el 25% de los carcinomas no basales se ubicaron en EC 3

El 5% de los carcinomas basales se ubicaron en EC 4 y no hubo casos de carcinomas no basales en este estadio.

Tamaño del tumor: el tamaño mayor en los carcinomas basales fue de 7.5 y el menor de 1 cm, con un promedio de 3.58 cm. En los carcinomas no basales se encontró un tamaño mayor de 12 cm, el menor de 1.3 cm, con un promedio de 3.7 cm. El 8% de los carcinomas basales y el 32% de los carcinomas no basales midieron más de 0-2 cm. El 73% de los carcinomas basales y el 73% de los no basales midieron 2.1 a 5 cm. El 17% de los carcinomas basales y el 19% de los no basales midieron más de 5 cm (**ver tabla 1**).

Tabla 1. Características de expresión de p53, Ki67, EC y tamaño del tumor en la población de carcinomas basales y no basales			
EXPRESIÓN DE p53	BASAL (n:27)	NO BASAL (n:34)	TOTAL (n:61)
0 A 50%	59.3%	45.5%	51.7%
51% Ó MÁS	40.7%	54.5%	48.3%
TOTAL	100.0%	100.0%	100.0%
EXPRESIÓN DE Ki67			
0 a 20%	30.8%	31.3%	31.0%
21 a 60%	34.6%	40.6%	37.9%
61% Ó MÁS	34.6%	28.1%	31.0%
TOTAL	100.0%	100.0%	100.0%
ESTADIO CLÍNICO			
EC 2	75.0%	75.0%	74.5%
EC 3	20.0%	25.0%	23.6%
EC 4	5.0%	0.0%	1.8%
TOTAL	100.0%	100.0%	100.0%
TAMAÑO DEL TUMOR			
MÁS DE 0 A 2 CM	8%	32%	20%
2.1 A 5 CM	74%	48%	61%
MÁS DE 5 CM	18%	20%	19%
TOTAL	100.0%	100.0%	100.0%

Se analizaron todos los patrones morfológicos y se muestran a continuación.

Grado histológico: el 11.1% de los carcinomas basales y el 22.6% de los carcinomas no basales fueron grado 2, el 88.9 % de los carcinomas basales y el 77.4% de los no basales fueron diagnosticados como grado 3. No se encontró ningún caso diagnosticado como grado 1 (**ver tabla 2**).

Necrosis: el 81.5% de los carcinomas basales y el 91.2% de los carcinomas no basales fueron diagnosticados con un porcentaje necrosis entre 0 y 25%. El 18.8% de los carcinomas basales y el 8.5% fueron diagnosticados con más del 25% de necrosis (**ver tabla 2**).

Infiltrado inflamatorio: 88% de los carcinomas basales y 82% de los no basales tuvieron un infiltrado inflamatorio del 0 al 50%. El 12% de los carcinomas basales y el 18% tuvieron un infiltrado inflamatorio mayor del 50% (**ver tabla 2**).

Permeación linfovascular: el 63% de los carcinomas basales y el 56% de los carcinomas no basales la presentó. El 37% de los carcinomas basales y el 44% de los carcinomas no basales no presentaron permeación linfovascular (**ver tabla 2**).

Desmoplasia: en un 77.8% de los carcinomas basales y un 88.1 de los carcinomas no basales la desmoplasia fue leve a moderada. Fue severa en 22.2 % de los carcinomas basales y un 18.2% de los carcinomas no basales (**ver tabla 2**).

Tipo de bordes: 14.8% los carcinomas basales y 26.5% de los no basales presentaron bordes empujantes. 85.2% los carcinomas basales y 73.5% de los no basales presentaron bordes infiltrantes (**ver tabla 2**).

Ganglios: el 52% de los carcinomas basales y el 50% de los no basales fueron positivos para metástasis, el 47.8% de los carcinomas basales y el 50% de los no basales fueron negativos (**ver tabla 2**).

Con estas variables y por medio del software SPSS versión 10 se realizó el método de regresión simple sin encontrar significancia estadística entre cada una de las variables en relación a las variables independientes (carcinoma basal y no basal).

Tabla 2. Características morfológicas en la población de carcinomas basales y no basales			
GRADO HISTOLÓGICO	BASAL	NO BASAL	TOTAL
GRADO 2	11.1%	22.6%	17.2%
GRADO 3	88.9%	77.4%	82.8%
TOTAL	100.0%	100.0%	100.0%
PORCENTAJE DE NECROSIS			
0 A 25 %	81.5%	91.2%	86.9%
MÁS DEL 25%	18.5%	8.8%	13.1%
TOTAL	100.0%	100.0%	100.0%
INFILTRADO INFLAMATORIO CRÓNICO			
0 AL 50%	88%	82%	85%
51 % Ó MÁS	12%	18%	15%
TOTAL	100%	100%	100%
PERMEACIÓN LINFOVASCULAR			
PRESENTE (%)	63%	56%	59%
AUSENTE (%)	37%	44%	41%
TOTAL	100 %	100%	100%
PORCENTAJE DE DESMOPLASIA			
LEVE A MODERADA	77.8%	88.1%	80.0%
SEVERA	22.2%	18.2%	20.0%
TOTAL	100.0%	100.0%	100.0%
TIPO DE BORDES			
EMPUJANTES	14.8%	26.5%	21.3%
INFILTRANTES	85.2%	73.5%	78.7%
TOTAL	100.0%	100.0%	100.0%
GANGLIOS			
POSITIVOS A NEOPLASIA	52.2%	50.0%	50.9%
NEGATIVOS A NEOPLASIA	47.8%	50.0%	49.1%
TOTAL	100.0%	100.0%	100.0%

DISCUSIÓN

En este estudio encontramos que la proporción de casos triple negativo son similares a otras investigaciones realizadas, sin embargo la proporción de casos basales es menor a lo encontrado en trabajos previos ya que se ha reportado que el carcinoma basal representa 15 a 20% de todos los casos de carcinoma de mama. En este estudio solo encontramos un 5% de carcinoma de tipo basal, esto probablemente debido a la exclusión de la mitad de los casos. La cantidad de casos triple negativo que no presentan inmunofenotipo basal fue mayor que lo analizado en otros estudios ya que se refiere que un 30% de los casos triple negativo corresponden al tipo no basal en este estudio un 60% de carcinomas triple negativo son de tipo no basal.

Encontramos 4 casos diagnosticados como carcinoma metaplásico y 2 como carcinoma medular, la mayoría de estos casos reportados en la literatura son de tipo basal (50-70%), estos 6 casos en este estudio fueron negativos.

El promedio de edad de los carcinomas triple negativos es similar a lo reportado en varios trabajos previos, aunque se comenta que los casos basales se presentan en una edad más temprana observándose lo contrario en este estudio ya que las dos pacientes más jóvenes (26 y 34 años) se encontraron en los carcinomas no basales.

Se sabe que los carcinomas triple negativo presentan una expresión elevada de proliferación que se demuestra con la expresión de Ki67, así como expresión elevada del p53. Escasas revisiones exploran la diferencia de estos 2 marcadores en carcinomas triple negativos basales y no basales. En nuestro estudio la diferencia más acentuada se presentó con la expresión de p53 en donde el 40.7% de los carcinomas basales expresaron en más del 50% de las células neoplásicas este marcador en comparación con los carcinomas no basales que se presentaron en 54.4 % (diferencia del 14%).

El promedio de tamaño del tumor entre los carcinomas no basales y basales no tuvo una diferencia significativa. Los tumores basales mostraron una tendencia a

medir más 2.1 a 5 cm en mayor proporción que los no basales, los estudios realizados reportan una proporción similar entre carcinomas basales y no basales.

La mayoría de estos tumores triple negativos se presentan en estadio 3 o 4, en nuestros casos el 74.5% de los casos se presentó en EC 2. Esta característica encontrada puede deberse a las detecciones oportunas dirigidas a la prevención del cáncer de mama realizadas en este y el resto de los hospitales de Petróleos Mexicanos. En la comparación entre los carcinomas basales o no basales no hubo una diferencia ya que ambos presentaron un EC 2 en 75% de sus casos.

En cuanto a la morfología los valores de chi cuadrada no fueron estadísticamente significativos (menor de 0.5). Ya que se encontró que el grado histológico, proporción de la necrosis, cantidad de infiltrado inflamatorio, permeación linfovascular, cantidad de desmoplasia, el tipo de bordes, y la afectación de los ganglios por la neoplasia eran muy similares entre los carcinomas basales y no basales.

Se han realizado pocos estudios en México sobre este tema, llama la atención uno realizado en 2008¹⁸ en donde se comparan los bordes tumorales en carcinomas basales, ellos reportan más del 45% con bordes empujantes. Nuestros resultados mostraron solo un 15%.

En algunas investigaciones se había observado que los ganglios en los carcinomas basales tenían mayor frecuencia de positividad para células neoplásicas que los no basales, en este trabajo no se encontró diferencia significativa.

CONCLUSIONES

- No existen diferencias estadísticamente significativas entre la morfología de los carcinomas que son inmunofenotipo basal y los que sólo son triple negativo en la población estudiada en el HCSAE PEMEX.

Dentro de las causas por las que no son estadísticamente significativas se establecen las siguientes:

- La cantidad de casos incluidos en este estudio es reducido.
- De los 122 casos triple negativos se excluyeron 61 casos por mala calidad, se debe hacer énfasis en el cuidado de los tejidos en los hospitales de referencia.
- Realmente no existen diferencias morfológicas entre estas 2 entidades y solo se puede definir estas entidades por medio de los marcadores utilizados actualmente en inmunohistoquímica, corroborados con microarreglos de ADN.
- Las variables valoradas no aportan diferencias entre cada una de estas entidades y habrá que valorarlos en el futuro con nuevos marcadores de inmunohistoquímica que son más accesibles.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

TAREAS A REALIZAR	MARZO		ABRIL		MAYO		JUNIO		JULIO		AGOSTO	
	1 AL 15	16 AL 31	1 AL 15	16 AL 30	1 AL 15	16 AL 31	1 AL 15	16 AL 30	1 AL 15	16 AL 31	1 AL 15	16 AL 31
DEFINIR Y DELIMITAR EL PROBLEMA												
IDENTIFICACIÓN DE LAS VARIABLES												
FORMULACIÓN DE LA HIPOTESIS												
ESPECIFICACIÓN DE LA MUESTRA												
PLANEAMIENTO DE RECURSOS FÍSICOS												
OBTENCIÓN DE DE DATOS												
CODIFICACIÓN DE DATOS												
ANÁLISIS ESTADÍSTICO E INTERPRETACIÓN												
REDACCIÓN Y REVISIÓN FINAL DE TESIS												
IMPRESIÓN DE TESIS												

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Porter P. Westernizing women's risk? Breast cancer in lower-income countries. *N Engl J Med* 2008;358;213-16.
- ² Rodríguez-Cuevas S, Macías C, Labastida S. Cáncer de mama en México: ¿enfermedad de mujeres jóvenes? *Ginecol Obst Méx* 2000;68(5):185-190.
- ³ Rodríguez-Cuevas S, Capurso-García M. Epidemiología del cáncer de mama. *Ginecol Obst Méx* 2006;74:585-93.
- ⁴ Marie Knaul Felicia, et. Al. Cáncer de mama en México: una prioridad apremiante. *salud pública de méxico* / 2009; 51: 336-344
- ⁵ Marchbanks PA, Mc Donald JA, Wilson HG, et al: oral contraceptives and the risk of breast cancer. *N Engl Med* 346:2025,2002.
- ⁶ Kumar Vinay, Abbas Abul et al. Robbins y Cotran Patología estructural y funcional , 7ma ed. Elseiver. 2005 (p.p. 1123-1158)
- ⁷ Fletcher Christopher. Diagnostic Histopathology of tumors. Third edition. Edinburgh; Churchill livingstone. 2007 (p.p. 903-950).
- ⁸ Van de VijerMJ, et al: A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 347: 1999, 2002.
- ⁹ DiGiovanna MP, Stern DF. Activation state-specific monoclonal antibody detects tyrosine phosphorylated p185neu/erbB-2 in a subset of human breast tumors overexpressing this receptor. *Cancer Res* 1995;55:1946-55.
- ¹⁰ DiGiovanna MP, Carter D, Flynn SD, Stern DF. Functional assay for HER-2/neu demonstrates active signalling in a minority of HER-2/neu-overexpressing invasive human breast tumours. *Br J Cancer* 1996;74:802-6.

-
- ¹¹ Jorge D.L. et. Al. Carcinoma mamario con inmunofenotipo similar al de las células basales. Estudio morfológico y perfil de expresión inmunohistoquímico de 54 casos triple negativos. *Patología revista latinoamericana*. 2008; 46 (4)303-308.
- ¹² Korsching E. et. al. Basal carcinoma of the breast revisited: and old entity with new interpretations. *J Clin Pathol*. 2008; 61:553-560.
- ¹³ Nielsen T, et. al. Inmunohistochemical and clinical characterization of the Basal-Like Subtype of invasive Breast Carcinoma. *Clinical Cancer Research*. 2004; 10: 5367-5374.
- ¹⁴ Dabbs D. J. Basal phenotype of ductal carcinoma in situ: recognition and immunohistologic profile. *Modern Pathology*. 2006; 19: 1506-1511
- ¹⁵ Lerma E. et. al. Inmunohistochemical heterogeneity of breast carcinomas negative for estrogen receptors, progesterone receptors and Her2/neu (basal-like breast carcinomas). *Modern Pathology*. 2007; 20: 1200-1207.
- ¹⁶ Kim MJ et al (2006) Clinicopathologic significance of the basallike subtype of breast cancer: a comparison with hormone receptor and Her2/neu-overexpressing phenotypes. *Hum Pathol* 37(9):1217–1226
- ¹⁷ Laakso M et al (2005) Cytokeratin 5/14-positive breast cancer: true basal phenotype confined to BRCA1 tumors. *Mod Pathol* 18(10):1321–1328
- ¹⁸ Jorge Buys D L, Zárate Osorno A et. al. Carcinoma mamario con inmunofenotipo similar al de las células basales. Estudio morfológico y perfil de expresión inmunohistoquímico en 54 casos triple negativos. *Patología* 2008;46(4):303-85255
- ¹⁹ Livasy CA et al (2006) Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol* 19(2):264–271
- ²⁰ Fulford LG et al (2006) Specific morphological features predictive for the basal phenotype in grade 3 invasive ductal carcinoma of breast. *Histopathology* 49(1):22–34

²¹ Jumppanen M et al (2007) Basal-like phenotype is not associated with patient survival in estrogen-receptor-negative breast cancers. *Breast Cancer Res* 9(1):R1

²² Carey LA et al (2006) Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *Jama* 295(21):2492–2502

²³ Scholzen T, Gerdes J (March 2000). "The Ki-67 protein: from the known and the unknown". *J. Cell. Physiol.* 182 (3): 311–22.

²⁴ Olaya Guzmán Emilio José: Cáncer de mama triple negativo, estado actual. *Revista de especialidades medico quirúrgicas.* 2010 ; (15): 228-236.