

SESIONES CIENTÍFICAS

ANÁLISIS COMPARATIVO DEL PERFIL INMUNOHISTOQUÍMICO DEL CARCINOMA DUCTAL IN SITU CON EL CARCINOMA DUCTAL INVASIVO

Javier I. J. Orozco,^{a/b} Francisco E. Gago,^{b/c} Daniel R. Ciocca,^d Bárbara Mendiando,^{a/b}
Leonardo Ciocca,^e Julia Ibarra,^e Olga Tello,^f Marta A. Martínez^g

RESUMEN

Introducción

Los subtipos moleculares han categorizado a los carcinomas mamarios invasivos en distintas entidades con comportamientos clínicos diferentes. Sin embargo, la prevalencia de estos subtipos en los carcinomas ductales in situ (CDIS) no ha sido evaluada en detalle. Los objetivos principales de este estudio fueron comparar los perfiles de expresión proteómica del CDIS y del carcinoma ductal invasivo (CDI) por técnicas de inmunohistoquímica (IHQ), clasificarlos acorde a los subtipos moleculares y evaluar las expresiones de los biomarcadores con relación al grado tumoral.

Material y métodos

Se evaluó la frecuencia en la expresión de receptor de estrógeno (RE), receptor de progesterona (RP), *human epidermal growth factor receptor* (HER-2), marcadores de proliferación (PCNA o Ki-67), *B-cell lymphoma 2* (Bcl-2) y p53, determinados por IHQ en 107 CDIS; y se los comparó con la expresión en 682 CDI. Se los clasificó acorde a los subtipos moleculares. Se evaluó la relación entre la expresión de estos marcadores y los grados nucleares e histológicos de los CDIS y CDI, respectivamente.

Resultados

La expresión de RP y Bcl-2 fue significativamente más frecuente en el grupo de CDIS ($p=0,0461$ y $p=0,0001$, respectivamente). Los CDI mostraron valores

a Médico de planta. Servicio de Ginecología y Mastología. Hospital Italiano de Mendoza.

b Área de Ginecología, Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza, Argentina.

c Jefe de Departamento de Tocoginecología. Hospital Italiano de Mendoza.

d Laboratorio de Oncología, Instituto de Medicina Experimental y Biología de Cuyo (IMBECU), Centro Tecnológico y Científico (CCT), CONICET.

e Médico residente. Departamento de Tocoginecología. Hospital Italiano de Mendoza.

f Laboratorio de Anatomía Patológica. Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza, Argentina.

g Colaborador externo.

Correo electrónico para el Dr. Javier I. J. Orozco: javier.i.j.orozco@gmail.com

significativamente aumentados para marcadores de proliferación celular y de p53 mutado ($p < 0,0001$ y $p = 0,0062$, respectivamente). La prevalencia de RE y HER-2 fue similar en ambos grupos ($p = 0,0912$ y $p = 0,4686$, respectivamente). El subtipo luminal A fue más común en los CDIS ($p = 0,0003$), mientras que los luminales B no HER-2 positivo y los triple negativos fueron más prevalentes en los CDI ($p = 0,0195$ y $p = 0,0351$, respectivamente). No hubieron diferencias en la frecuencia de luminales B HER-2 y en HER-2 positivos ($p = 0,3279$ y $p = 1,0000$, respectivamente).

Conclusiones

Los CDIS presentan diferencias significativas en los subtipos tumorales, comparados con CDI. La menor frecuencia de tumores triple negativos y luminales B HER-2 negativo, menor expresión de p53 mutada y menor grado de proliferación, permite sugerir un comportamiento menos agresivo de los CDIS.

Palabras clave

Carcinoma ductal in situ. Inmunohistoquímica. Clasificación molecular.

SUMMARY

Introduction

The molecular subtypes have classified invasive mammary carcinomas in diverse entities with different clinical behaviors, but the prevalence of these subtypes in ductal carcinoma in situ (DCIS) has not been evaluated in detail. The main objectives of this study were to compare proteomic expression profiles of DCIS and invasive ductal carcinoma (IDC) determined by immunohistochemical techniques, classified them according to the molecular subtypes and evaluate the relationship between the expression of the biological markers and the tumoral grade.

Material and methods

We assessed the frequency of expression of ER, PR, HER-2, proliferation markers (PCNA or Ki-67), Bcl-2 and p53 determined by IHC in 107 DCIS and compared with the expression of 682 IDC. They were classified according to molecular subtypes. We evaluated the relationship between the expression of these markers and the nuclear and histological grades of DCIS and IDC respectively.

Results

The expression of Bcl-2 and PR was significantly more frequent in the DCIS group ($p = 0,0461$ and $p = 0,0001$, respectively). The IDC showed significantly increased values for cell proliferation markers and mutated p53 ($p < 0,0001$ and $p = 0,0062$, respectively). The prevalence of ER and HER-2 was similar in both groups ($p = 0,0912$ and $p = 0,4686$, respectively). The luminal A subtype was more common in DCIS ($p = 0,0003$), whereas luminal B no-HER-2 and triple negative were more prevalent in IDCs ($p = 0,0195$ and $p = 0,0351$, respectively). There were no differences in the frequency of luminal B HER-2 and HER-2 positives ($p = 0,3279$ and $p = 1,0000$, respectively).

Conclusions

The DCIS presents significant differences in tumor subtypes compared with CDI. The lower frequency of triple negative tumors and luminal B HER-2 negative, lower expression of mutated p53 and lower degree of proliferation, suggest a less aggressive behavior of DCIS.

Key words

Ductal carcinoma in situ. Immunohistochemical. Molecular classification.

INTRODUCCIÓN

El carcinoma ductal in situ (CDIS), de manera similar al carcinoma ductal invasivo (CDI) o carcinoma de tipo no especial [non special type (NST)], representa un conjunto de enfermedades con distintas presentaciones clínicas, subtipos histológicos y comportamientos biológicos.^{1,2} En países desarrollados, contabiliza hasta el 20-25% de todos los cánceres de mama diagnosticados por mamografía.³ La historia natural del CDIS es actualmente poco conocida, y no puede claramente predecirse qué CDIS progresará a carcinoma invasivo, ni tampoco puede estimarse el intervalo en que se desarrollará un CDIS recurrente o un carcinoma invasivo.⁴⁻⁶ Los parámetros convencionales, tales como el patrón arquitectural histológico, el grado nuclear y la presencia de necrosis, han sido utilizados para clasificar y determinar el pronóstico del CDIS.^{1,7} Sin embargo, estas características morfológicas no reflejan la verdadera biología de la enfermedad. Algunos estudios han mostrado que la expresión de marcadores tales como el receptor de estrógeno (RE), el receptor de progesterona (RP), el *human epidermal growth factor receptor 2* (HER-2), Ki-67, p53 y *B-cell lymphoma 2* (Bcl-2) se correlacionan más con el grado tumoral que con la invasión.^{6,8-10}

Los análisis de expresión génica por *microarrays* han demostrado la existencia de distintos subtipos moleculares de carcinoma mamario invasivo, los cuales pueden resumirse en luminales (A y B), HER-2 y triple negativos/basales.^{11,12} Se acepta actualmentemente la determinación, mediante técnicas de inmunohistoquímica (IHQ), de la expresión de los biomarcadores RE, RP, HER-2 y marcadores de proliferación, como sustitutos para la clasificación molecular.¹³⁻¹⁶ Estos subtipos moleculares están mejor establecidos para los carcinomas mamarios invasivos que para los CDIS. Pocos estudios han comparado la expresión de marcadores entre CDIS y carcinomas ductales invasivos.¹⁷⁻¹⁹ Distintos marcado-

res han valorado las tasas de proliferación de los carcinomas mamarios, tales como el Ki-67²⁰ o el PCNA (*proliferating cell nuclear antigen*). Ambos evalúan la detección de antígenos nucleares.²¹ Existen datos limitados con respecto a la relación entre los subtipos moleculares y el grado tumoral y la expresión de p53 y de Bcl-2.^{19,22,23}

Los análisis moleculares han demostrado la existencia de dos vías moleculares distintas *multi-steps*, en función del grado (bajo y alto) para la transición de epitelio normal a CDIS. Además, los análisis de expresión han enfatizado las diferencias biológicas entre los CDIS de bajo y alto grado.^{24,25}

Los objetivos del presente estudio fueron: A) realizar un análisis comparativo de los perfiles de expresión fenotípica de los biomarcadores (RE, RP, HER-2, marcadores de proliferación, p53 y Bcl-2) entre el CDIS y el CDI obtenidos por técnicas de IHQ; B) clasificar a los carcinomas mamarios (in situ e invasivos) acorde a los subtipos moleculares, utilizando la IHQ como marcadores sustitutos; y C) investigar la relación de estos marcadores con el grado tumoral.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio retrospectivo consistió en la evaluación de 107 pacientes consecutivas con diagnóstico de CDIS y de 682 pacientes con CDI, tratadas en el Servicio de Ginecología y Mastología del Hospital Italiano de Mendoza, durante el período 1999 hasta 2010. Se incluyeron a todas las pacientes que presentaron el panel completo de marcadores por IHQ (RE, RP, HER-2, PCNA o Ki-67, Bcl-2 y p53). El grado nuclear en los CDIS fue clasificado en grado 1 (bajo), 2 (intermedio) y 3 (alto).⁷ La determinación del grado histológico en los CDI fue realizada con los criterios del Score Nottingham modificado (Elston-Ellis).²⁶

La expresión de los marcadores fue efectuada de manera prospectiva como parte de la eva-

	CDIS	CDI	p
n	107	682	
Edad Media (años)	52,75	55,79	0,0219
Tamaño tumoral medio (cm)	1,62	2,23	<0,0001
Grado			
1	44 (41,12%)	95 (13,92%)	<0,0001
2	29 (27,10%)	277 (40,61%)	0,0076
3	34 (31,78%)	310 (45,45%)	0,0086

Tabla I. Comparación de parámetros clínico-patológicos.

luación de las pacientes al momento del diagnóstico.

En todos los tacos de parafina se realizaron tinciones de inmunohistoquímica con anticuerpos monoclonales de Dako Medical Systems. Para RE, el clon fue D75, con una dilución 1:100. Para RP, el clon fue 1A6, con una dilución 1:80. A ambos receptores hormonales se los consideró positivos si $\geq 1\%$ de los núcleos celulares tumorales fueron inmunorreactivos. Para HER-2, se utilizó el clon AO485, con una dilución 1:200, y se lo estimó positivo o HER-2 3+ a una tinción uniforme intensa de la membrana celular $>30\%$ de las células tumorales. Para Ki-67 se empleó el clon MIB1, con una dilución 1:100, considerándolo $<14\%$ bajo y $\geq 14\%$ alto. Para evaluar al PCNA se empleó el clon PC10, dilución 1:500, y se lo clasificó como alto a valores $>30\%$. En el caso de Bcl-2, el clon fue 124, con una dilución 1:80. Para p53, el clon fue DO7, con una dilución 1:80. Se consideró positiva tanto a Bcl-2 como a p53, a una tinción $>30\%$.

Se efectuó la clasificación en subtipos moleculares basada en la IHQ acorde a los siguientes criterios: luminal A (RE+ y/o RP+, HER-2-, PCNA o Ki-67 bajo), luminal B HER-2- (RE+ y/o RP+, HER-2-, PCNA o Ki-67 alto), luminal B HER-2+ (RE+ y/o RP+, HER-2+), HER-2+ (RE-, RP-, HER-2+) y triple negativos (RE-, RP-, HER-2-). Se analizaron los patrones de expresión de los distintos marcadores en CDIS y CDI, evaluando las proporciones de los

distintos subtipos moleculares. Se determinaron los perfiles de expresión acorde al grado nuclear en CDIS y al grado histológico en CDI.

La diferencia de medias entre las edades y los tamaños tumorales se calculó con el test de Mann-Whitney. El test exacto de Fisher y Chi cuadrado (χ^2) fueron utilizados para comparar variables cualitativas (grado nuclear en CDIS, grado histológico en CDI, expresión proteómica de los biomarcadores). Los análisis estadísticos fueron realizados con los paquetes estadísticos GraphPad InStat Software v3.1 y MedCalc v11.6.1.0. Todas las pruebas estadísticas fueron a dos colas y se consideró a un nivel de $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

RESULTADOS

En el grupo CDIS se observó una edad media de presentación más joven ($p=0,0219$), con un tamaño tumoral medio más pequeño ($p < 0,0001$) y una mayor proporción de tumores grado 1 ($p < 0,0001$). Por el contrario, en los CDI se encontraron con mayor frecuencia grados 2 y 3 ($p=0,0076$ y $p=0,0086$, respectivamente) (Tabla I).

En los CDIS la expresión de RE y HER-2 fue similar a la observada en los CDI, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0,0912$ y $p=0,4686$, respectivamente) (Tabla II). La expresión de RP y Bcl-2 fue mayor en el grupo de CDIS ($p=0,0461$ y $p=0,0001$). En cambio, los

		CDIS	CDI	p
RE	Positivo	82 (76,63%)	467 (68,47%)	0,0912
	Negativo	25 (23,37%)	215 (31,53%)	
RP	Positivo	70 (65,42%)	373 (54,69%)	0,0461
	Negativo	37 (34,58%)	309 (45,31%)	
HER-2	Positivo	19 (17,78%)	101 (14,81%)	0,4686
	Negativo	88 (82,22%)	581 (85,19%)	
PCNA o Ki-67	Bajo	65 (60,75%)	206 (30,21%)	<0,0001
	Alto	42 (39,25%)	476 (69,79%)	
Bcl-2	Positivo	84 (78,51%)	405 (59,38%)	0,0001
	Negativo	23 (21,49%)	277 (40,62%)	
p53	Positivo	33 (30,84%)	307 (45,01%)	0,0062
	Negativo	74 (69,16%)	375 (54,99%)	

Tabla II. Comparación de la expresión de marcadores.

CDI mostraron valores significativamente elevados en la expresión de marcadores de proliferación celular (PCNA o Ki-67) ($p < 0,0001$) y de p53 mutada ($p = 0,0062$).

La prevalencia de los subtipos moleculares fue significativamente diferente (Tabla III). Los luminales A fueron más comunes en los CDIS ($p = 0,0003$), mientras que los luminales B (no HER-2) y los triple negativos fueron más prevalentes en los CDI ($p = 0,0195$ y $p = 0,0351$, respectivamente). No se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de luminales B HER-2 y en los subtipos HER-2 entre ambos grupos ($p = 0,3279$ y $p = 1,0000$, respectivamente).

Con relación al grado nuclear de los CDIS, no se detectaron diferencias con respecto a la expresión del RE, de Bcl-2 y de p53 mutada

($p = 0,3691$, $p = 0,8136$ y $p = 0,3138$, respectivamente) (Tabla IV). Los marcadores de proliferación (PCNA y Ki-67) aumentaron significativamente a medida que aumentó el grado nuclear ($p < 0,0001$). Los RP se expresaron mayormente en los CDIS grado 1, y el HER-2 en los carcinomas intraductales grado 3, pero esto no fue estadísticamente significativo ($p = 0,0741$ y $p = 0,0851$, respectivamente).

Con respecto al grado histológico de los CDI y su perfil de expresión por IHQ (Tabla V), se observó una mayor frecuencia de RE, RP, Bcl-2 en los grados 1, de manera significativa ($p < 0,0001$). Los carcinomas G3 mostraron mayor expresión de HER-2, de marcadores de proliferación y de p53 mutada ($p < 0,0001$, $p < 0,0001$ y $p = 0,0110$, respectivamente).

	CDIS	CDI	p
Luminal A	46 (43,00%)	172 (25,22%)	0,0003
Luminal B	32 (29,91%)	288 (42,23%)	0,0195
Luminal B - HER-2	11 (10,28%)	50 (7,33%)	0,3279
HER-2	8 (7,47%)	51 (7,48%)	1,0000
Triple negativo	10 (9,34%)	121 (17,74%)	0,0351

Tabla III. Prevalencia de subtipos moleculares.

n	Grado 1 (44)	Grado 2 (29)	Grado 3 (34)	p
RE positivo	35 (79,54%)	23 (79,31%)	24 (70,58%)	0,3691
RP positivo	33 (75,00%)	18 (62,07%)	19 (55,88%)	0,0741
HER-2 positivo	6 (13,64%)	3 (7,69%)	10 (29,41%)	0,0851
PCNA / Ki-67 alto	6 (13,64%)	15 (51,72%)	21 (61,76%)	<0,0001
Bcl-2 positivo	33 (75,00%)	25 (86,21%)	26 (76,47%)	0,8136
p53 positivo	9 (20,45%)	14 (48,27%)	10 (29,41%)	0,3138

Tabla IV. Expresión de marcadores acorde al grado nuclear de CDIS.

DISCUSIÓN

El presente estudio fue diseñado para comparar los perfiles de expresión fenotípica (RE, RP, HER-2, marcadores de proliferación celular, p53 y Bcl-2) entre los CDIS y los CDI. Encontramos que los CDIS expresan con mayor frecuencia RP y Bcl-2 de manera significativa, comparada con los CDI. La expresión de RE fue ligeramente mayor en los CDIS, aunque esto no fue estadísticamente significativo. No hubo diferencias en los grupos con respecto a la expresión de HER-2. Este hallazgo coincide con el estudio de Sarode et ál.,¹⁹ aunque difiere de muchos otros autores, donde existió una mayor prevalencia de HER-2 en CDIS.^{17,23,24} Los CDI mostraron valores aumentados en la expresión de marcadores de proliferación celular (PCNA o Ki-67), observándose también una mayor proporción de grados histológicos 2 y 3. Estos datos se condicen con las capacidades de las célu-

las invasivas de mantener altas tasas de proliferación.²⁷

Existen pocos estudios que comparen los subtipos moleculares entre CDIS y CDI.^{17-19,28} En los CDIS, el subtipo predominante fue el luminal A. Estos tumores se originan de células progenitoras luminales bien diferenciadas con alta tasa de expresión de RE/RP y Bcl-2. La significativa mayor prevalencia de luminales A en los CDIS, podría ser explicada por una mayor detección de lesiones subclínicas tempranas debido a la utilización de la mamografía.³ Otra posibilidad es que la mayoría de estas lesiones de bajo grado no progresen a CDI durante la vida de la paciente debido a su baja tasa de proliferación.² En los CDI el subtipo más frecuente fue el luminal B no HER-2. Nuestros hallazgos coinciden con los de los autores que utilizaron a los marcadores de proliferación elevados para definir a los luminales B,¹⁹ y difieren de quienes no los consideraron para diferenciar a los luminales A de

n	Grado 1 (95)	Grado 2 (277)	Grado 3 (310)	p
RE positivo	83 (87,36%)	208 (75,10%)	176 (56,77%)	<0,0001
RP positivo	71 (74,74%)	164 (59,21%)	138 (44,52%)	<0,0001
HER-2 positivo	6 (6,31%)	28 (10,11%)	67 (21,61%)	<0,0001
PCNA / Ki-67 alto	22 (23,16%)	156 (56,31%)	298 (96,13%)	<0,0001
Bcl-2 positivo	68 (71,58%)	185 (66,79%)	152 (49,03%)	<0,0001
p53 positivo	37 (38,95%)	113 (40,79%)	157 (50,65%)	0,0110

Tabla V. Expresión de marcadores acorde al grado histológico de CDI.

B. Estos últimos autores observaron mayor frecuencia de luminales A en CDI.^{17,29}

Tanto los luminales B HER-2 como los subtipos HER-2 no mostraron diferencias significativas entre ambos grupos. Se desconoce actualmente el rol del HER-2 en el CDIS. Algunos autores sugieren que la sobreexpresión de HER-2 predice una más rápida progresión invasiva. Se ha postulado que promueve la expresión de factores que aumentan la invasión. También se ha teorizado que el HER-2 puede estar sobreexpresado en estadios iniciales y subregulado en los estadios invasivos.³⁰

Los tumores triple negativos fueron poco frecuentes en los CDIS, siendo más predominantes en los CDI. Esto es similar a lo observado en otros estudios.^{17,19} Se ha sugerido que los CDIS tipo basal pueden tener una fase in situ muy breve. Esto explicaría su baja prevalencia en CDIS.³¹ Además, en los CDI observamos una menor prevalencia en la expresión de RE, RP y HER-2, lo que aumentaría la frecuencia de triple negativos en CDI. Esto podría sostener la teoría de que los CDI triple negativos pueden resultar de un fenotipo adquirido que evolucionó de subtipos luminales o HER-2,³¹ aunque también es posible que surjan de una evolución clonal.²⁸

Investigamos la relación de estos marcadores con el grado nuclear de los CDIS. No se encontraron diferencias entre los grados nucleares, con respecto a RE, Bcl-2 y p53 en CDIS. Existió una tendencia, aunque no estadísticamente significativa a una mayor expresión de RP en los grados 1, y a una mayor expresión de HER-2 en los grados 3. En otros estudios se ha observado una diferencia significativa con mayor expresión de RE, RP y Bcl-2 en grados 1, y con mayor frecuencia de HER-2 y p53 en grados 3.^{19,23} La única diferencia significativa detectada fue que los marcadores de proliferación (PCNA y Ki-67) aumentaron a medida que se incrementó el grado nuclear.

Con relación al grado histológico de los CDI observamos una mayor frecuencia de RE, RP,

Bcl-2 en los grados 1, de manera significativa, mientras que los tumores G3 mostraron mayor expresión de HER-2, de marcadores de proliferación y de p53 mutada.

Una de las limitaciones de este estudio fue que no se analizó el componente in situ de los CDI, para compararlos con los CDIS. Diversos estudios no han mostrado diferencias en la expresión de biomarcadores.²⁸ Utilizamos marcadores inmunohistoquímicos como sustitutos para la clasificación de los subtipos, la cual tiene un valor de pronóstico y predicción, aunque puede no ser exacta y subestimar las diferencias entre los grupos. Este estudio presenta la fortaleza de haber estudiado los tacos de parafina de manera prospectiva al momento del diagnóstico, lo cual puede reducir los sesgos de recolección y evaluación de la muestra. Además, abarcó la valoración de un gran número de CDIS con un panel extenso de marcadores, evaluados en una única institución.

En conclusión, el CDIS es una entidad heterogénea y de manera similar al CDI, puede ser clasificado en distintos subtipos, por inmunohistoquímica. Puede inferirse que existen distintas vías de progresión tumoral, basados en los subtipos moleculares. De nuestro estudio, puede establecerse que la transición molecular de in situ a invasivo, requiere una disminución significativa de la expresión de receptores hormonales y Bcl-2; con una ganancia en marcadores de proliferación y en la pérdida de función de p53.

REFERENCIAS

1. IARC, WHO. WHO Classification of Tumours of the Breast. 4th ed: World Health Organization; 2012.
2. Tsikitis VL, Chung MA. Biology of ductal carcinoma in situ classification based on biologic potential. *Am J Clin Oncol* 2006; 29: 305-10.
3. Kerlikowske K. Epidemiology of ductal carcinoma in situ. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2010; 2010: 139-41.
4. Morrow M. Current Management of Ductal Carcinoma In situ: Unresolved Problems and Research Opportunities. *Am Assoc Cancer Res Educ Book* 2009; pp.91-5.

5. Simpson P. Linear and Nonlinear Models of Progression from In situ to Invasive Breast Cancer. *Am Assoc Cancer Res Educ Book* 2009; pp.105-9.
6. Tang P, Hajdu SI, Lyman GH. Ductal carcinoma in situ: a review of recent advances. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2007; 19: 63-7.
7. Consensus conference on the classification of ductal carcinoma in situ. *Cancer* 1997; 80: 1798-802.
8. Wiechmann L, Kuerer HM. The molecular journey from ductal carcinoma in situ to invasive breast cancer. *Cancer* 2008; 112: 2130-42.
9. Warnberg F, Nordgren H, Bergkvist L, Holmberg L. Tumour markers in breast carcinoma correlate with grade rather than with invasiveness. *Br J Cancer* 2001; 85: 869-74.
10. Lacroix M, Toillon R-A, Leclercq G. Stable 'portrait' of breast tumors during progression: data from biology, pathology and genetics. *Endocr Relat Cancer* 2004; 11: 497-522.
11. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10869-74.
12. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406: 747-52.
13. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, et al. Strategies for subtypes –dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2011. *Ann Oncol* 2011; 22: 1736-47.
14. O'Brien KM, Cole SR, Tse CK, et al. Intrinsic breast tumor subtypes, race, and long-term survival in the Carolina Breast Cancer Study. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 6100-10.
15. Dawood S, Hu R, Homes MD, et al. Defining breast cancer prognosis based on molecular phenotypes: results from a large cohort study. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 126: 185-92.
16. Wiechmann L, Sampson M, Stempel M, et al. Presenting features of breast cancer differ by molecular subtype. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 2705-10.
17. Tamimi R, Baer H, Marotti J, et al. Comparison of molecular phenotypes of ductal carcinoma in situ and invasive breast cancer. *Breast Cancer Res* 2008; 10: R67.
18. Steinman S, Wang J, Bourne P, Yang Q, Tang P. Expression of cytokeratin markers, ER-alpha, PR, HER-2/neu, and EGFR in pure ductal carcinoma in situ (DCIS) and DCIS with co-existing invasive ductal carcinoma (IDC) of the breast. *Ann Clin Lab Sci Spring* 2007; 37: 127-34.
19. Sarode VR, Han JS, Morris DH, Peng Y, Rao R. A comparative analysis of biomarker expression and molecular subtypes of pure ductal carcinoma in situ and invasive breast carcinoma by image analysis: relationship of the subtypes with histologic grade, Ki67, p53 overexpression, and DNA ploidy. *Int J Breast Cancer* 2011; 2011: 217060.
20. Macis D, Cazzaniga M, De Censi A, Bonanni B. Role of traditional and new biomarkers in breast carcinogenesis. *Ecancermedicalscience* 2009; 3: 157.
21. Malkas LH, Herbert BS, Abdel-Aziz W, et al. A cancer-associated PCNA expressed in breast cancer has implications as a potential biomarker. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 19472-7.
22. Clark SE, Warwick J, Carpenter R, Bowen RL, Duffy SW, Jones JL. Molecular subtyping of DCIS: heterogeneity of breast cancer reflected in pre-invasive disease. *Br J Cancer* 2011; 104: 120-7.
23. Meijnen P, Peterse JL, Antonini N, Rutgers EJ, van de Vijver MJ. Immunohistochemical categorization of ductal carcinoma in situ of the breast. *Br J Cancer* 2008; 98: 137-42.
24. Burstein HJ, Polyak K, Wong JS, Lester SC, Kaelin CM. Ductal carcinoma in situ of the breast. *N Engl J Med* 2004; 350: 1430-41.
25. Vincent-Salomon A, Delattre O. Role of Genetic, Genomic, and Transcriptomic Factors. In: *Am Assoc Cancer Res Educ Book*; 2009: pp.97-103.
26. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991; 19: 403-10.
27. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-74.
28. Allred DC, Wu Y, Mao S, et al. Ductal carcinoma in situ and the emergence of diversity during breast cancer evolution. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 370-8.
29. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006; 295: 2492-502.
30. Roses RE, Paulson EC, Sharma A, et al. HER-2/neu overexpression as a predictor for the transition from in situ to invasive breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 1386-9.
31. Livasy CA, Perou CM, Karaca G, et al. Identification of a basal-like subtype of breast ductal carcinoma in situ. *Human Pathology* 2007; 38: 197-204.

DEBATE

Dr. Allemand: Dr. Orozco, la pregunta es si es válido trasladar los inmunofenotipos de los carcinomas ductales invasivos a los carcinomas ductales in situ. Más allá que uno pueda evaluar

los marcadores, ¿es lícito utilizar esa clasificación y aplicársela a los carcinomas in situ?

Dr. Orozco: Lo hemos hecho. En realidad si uno quiere hacer esta historia larga muy breve, la respuesta sería no. NCCN establece que para carcinomas ductales in situ solamente hay que hacer receptores hormonales y nada más. De hecho esto no tiene un valor de predicción todavía en los carcinomas ductales in situ, ya que HER-2 no tiene ningún tratamiento para el in situ hasta el día de la fecha. Creo que la limitación del trabajo, en realidad nuestra, fue que no se evaluó el componente in situ de los tumores invasivos. En realidad hemos evaluado dos muestras diferentes de in situ *versus* invasivo, y no el componente in situ del invasivo. Quizás ahí es cuando uno podría realmente establecer cuál sería el camino de la transición de in situ a invasivo.

Dr. Allemand: Un comentario. Salió publicado hace poco un trabajo sobre un score de recurrencia en los carcinomas in situ. Tal vez esto pueda ayudar a futuro, y esto inclusive también que es la evaluación de todos los marcadores, de poder predecir cuáles son aquellos que tienen capacidad de recurrir o no cuando el invasivo es como el in situ. Esto ha generado este nuevo *oncotype* para los carcinomas in situ, para poder seleccionar a las pacientes con radioterapia. Así que éste es un camino interesante.

Dr. Orozco: Es un camino. Otro antecedente es el nomograma que tiene el Memorial con el mismo sentido, pero con factores más clínicos.

Dra. Margossian: Quería felicitarlo por el trabajo, muy interesante. Dos comentarios. Uno sería agregar algo sobre el origen de los triple negativos, es verdad, es muy difícil. Hay varias teorías; hay una teoría que dice que muchas veces se vuelve negativo el carcinoma in situ con valor positivo de estrógeno y progesterona para después dar un invasivo que es un triple nega-

tivo. También hablaban del tema de dar tamoxifeno o no en pacientes con antecedentes familiares que a veces iban a ser tumores triple negativos y si eso podía servir y para qué. Hay una teoría que dice que en el origen probablemente podría tener estrógeno y progesterona positivo a nivel molecular. Otra cosa que hubiera sido interesante es ver qué pasaba con las recurrencias en los in situ invasivos cuando recurrían como invasivos, a ver qué tipo de invasivo daba ese mismo in situ.

Dr. Orozco: No fueron los objetivos iniciales del trabajo, pero esos datos los tenemos. En realidad las recurrencias que tuvimos fueron muy bajas. En el trabajo original 107 pacientes fueron las que reclutamos con los biomarcadores; el trabajo original tenía 225 pacientes y solamente hubieron 15 eventos de recurrencia. No nos coincide con la literatura, tenemos muchas más recurrencias invasivas que in situ. No es el 50% y 50% como en la mayoría de las series. Respondiendo ahora sí la pregunta del Dr. Allemand, en realidad de si se puede aplicar esto a los in situ, quizás en el futuro, no lo sabemos, pero al ser una enfermedad tan silente o de evolución más lenta, es difícil establecerlo. Desde nuestras recurrencias la mayoría fueron luminales pero también nuestra mayoría fueron luminales en los in situ, digamos luminales A, por eso no sé si esto tiene un valor de pronóstico.

Dr. Martín: Si tiene un valor de pronóstico o predicción y si tendrá eso alguna implicancia en el tratamiento, después si se podrá hacer algo más de lo que conocemos en el in situ, cosas que pareciera que no pudieran hacerse porque carcinoma in situ sería por definición que no daría metástasis. Hay un estudio que se hizo con trastuzumab en el in situ, está bien que era para evaluar otra cosa, pero en el futuro tenemos tantos cambios que a veces cosas que hoy nos parecen que son increíbles en 2 años por ahí son realidad.