Clasificación molecular (IHQ): subtipos intrínsecos y compromiso axilar

Juan Pedro Begue, Pedro Begue,* Laura Rodríguez,** Hugo Blumetti,* Eduardo Alvarado****

Resumen

Introducción

Perou y Sorlie en el año 2000 sentaron las bases de la actual *clasificación molecular* en cáncer de mama al postular que los tumores se podían clasificar en subtipos de acuerdo con diferencias en sus patrones de expresión génica (Luminales, Basal like, Normal like y HER2). El costo prohibitivo de estos estudios llevó a buscar clasificaciones sustitutas basadas en las técnicas de Inmuno-Histoquímica (IHQ). En 2011, el Consenso de St Gallen aceptó una clasificación sustituta basada en el estatus de los Receptores Hormonales y la actividad proliferativa (Ki 67). ¿Podrá el subtipo molecular ser un factor predictivo más de compromiso axilar?

Objetivo

El objetivo principal de este estudio es analizar la relación entre los subtipos moleculares de cáncer de mama (IHQ) y el compromiso axilar en nuestra población. Los objetivos secundarios incluyen: determinar la frecuencia de los distintos subtipos moleculares y algunas variables clínico-patológicas de los mismos como edad, tamaño tumoral y estadios de presentación.

Material y método

Se analizaron los informes anátomo-patológicos de 214 pacientes operadas entre 2005 y 2015. Se obtuvieron los siguientes datos: edad, Tamaño Tumoral, Estadio pTNM, compromiso axilar, Receptores Hormonales, HER2, Grado Histológico o Ki 67. Se los dividió en subgrupos de acuerdo con la

Trabajo final del II Curso Bienal Nacional Teórico-Práctico de Acreditación en Mastología 2013-2014, Escuela Argentina de Mastología. Marzo de 2016.

* Servicio de Ginecología y Mastología de la Clínica 25 de Mayo, Mar del Plata, Argentina.

** Servicio de Anatomía Patológica de la Clínica 25 de Mayo, Mar del Plata, Argentina.

*** Centro de Mastología de Rosario (CEMA), Rosario, Santa Fe, Argentina.

Correo electrónico de contacto: juapebegue@gmail.com

clasificación molecular basada en Inmuno-Histoquímica sugerida por St Gallen 2011/2013 y se compararon sus resultados.

Resultados

El Luminal A presentó un esperable bajo riesgo de metástasis axilar (21%). El Triple Negativo fue el de mayor compromiso con el 53%, no muy lejos de los Luminales B y Luminal B/HER2, que ostentan el 50%. Estos dos grupos mostraron alta proporción de axilas comprometidas con más de 3 ganglios (Luminal B/HER2: 62,5% (!!!!)) y 10 ganglios (Luminal B: 75% de todos los tumores con 10 o más ganglios, pN3a). La sorpresa fue el grupo HER2+ que, siendo el de mayor tamaño tumoral y menor edad, mostró un bajísimo 11% de compromiso axilar.

Conclusiones

El conocimiento del subtipo molecular intrínseco (IHQ) actualmente no nos permitiría por sí solo cambiar la conducta con respecto al manejo de la axila. No cumple todavía los requisitos para ser un factor predictivo independiente. Solo seleccionados tumores Luminales A podrían ser candidatos a un manejo más conservador acorde a las evidencias del estudio Amaros y ACOSOG-Z0011.

Palabras clave

Cáncer de mama. Subtipos intrínsecos. Compromiso axilar.

Summary

Introduction

Perou and Sorlie in 2000 laid the foundations of the current molecular classification of breast cancer by postulating that tumors could be classified into subtypes according to differences in their patterns of gene expression (Luminal, Basal like, Normal like and HER2). The prohibitive cost of these studies led to find surrogates classifications based on the techniques of ImmunoHistochemistry (IH). In 2011, St Gallen consensus accepted a substitute classification based on Hormone Receptor status and proliferative activity (Ki 67). May be molecular subtype a predictor of axillary more commitment?

Objective

Primary objective: to analyze the relationship between molecular subtypes of breast (IH) cancer and axillary involvement on our side población. Secondary objectives: frequency of the different molecular subtypes and some clinical-pathological variables thereof as age, tumor size and stages of presentation.

Materials and method

Anatomo-pathological reports of 214 patients operated between 2005 and 2015. Obtained the following data was analyzed: age, tumor size, stage pTNM, axillary involvement, Hormonal Receptors, HER2, histological grade or Ki 67. Divided them into subgroups according to the molecular classification based on ImmunoHistochemistry suggested by St. Gallen 2011/2013 and the results were compared.

Results

The Luminal A had an expected low risk of axillary metastases (21%). The Triple Negative was the largest commitment to 53%, not far from the Luminal B and Luminal B/HER2 who hold 50% .These two groups showed high proportion of underarm committed to more than 3 nodes (Luminal B/HER2: 62.5% (!!!!)) and 10 nodes (Luminal B: 75% of all tumors with 10 or more nodes, pN3a).The surprise was the HER2+ group being the largest tumor size and showed a very low younger 11% of axillary involvement.

Conclusions

Knowledge of the intrinsic molecular subtype (IH) currently would not allow us alone change behavior regarding the management of axila. No still meets the requirements to be an independent predictor. Only Luminal A tumors might be candidates for management more conservative according to the evidence of Amaros and ACOSOG-Z0011 study.

Key words

Breast cancer. Intrinsic subtypes. Axillary metastasis.

Introducción

El cáncer de mama es la enfermedad maligna más común entre las mujeres de todo el mundo, representando el 25% del total de los cánceres femeninos (1,67 millones de nuevos casos en el año 2012). Es responsable

del 14,7% de la mortalidad por cáncer (522.000/año) y es la primera causa de muerte por cáncer en países en desarrollo (324.000) y la segunda en los países más ricos (198.000) detrás del cáncer de pulmón.[1] Nuestro país ostenta el triste privilegio de conformar el grupo de países con más alta incidencia y, a su vez, mayor mortalidad:[2] la *incidencia* es de 71/100.000 –casos nuevos por año: 19.386–; y la *mortalidad* es de 19,9/100.000 –muertes por año: 5.530–. A pesar del innegable avance en su investigación y de la innovación en métodos diagnósticos en las últimas décadas, los índices de incidencia y mortalidad indican que sigue siendo una patología con mucho por conocer.

Actualmente no hay dudas de que bajo el término "cáncer de mama" englobamos un grupo heterogéneo de enfermedades malignas que comparten el mismo órgano como lugar de inicio –la mama y los distintos tejidos que la componen (conductos, lobulillos, tejido adiposo, tejido conjuntivo)– pero que pueden diferir en muchísimos otros aspectos clínico-patológicos.

La combinación de la clásica estadificación clínica por TNM, aún vigente, con la clasificación por tipos histológicos –útil en su momento para ayudar a ordenar la nomenclatura e intentar hablar el mismo idioma– hoy ha demostrado ser obsoleta e incapaz de poder explicar los distintos comportamientos (pronósticos y respuestas a los tratamientos adyuvantes) de enfermedades que comparten el mismo estadio y grupo histológico.

Con el avance y conocimiento del genoma humano y su posterior aplicación en la investigación en cáncer de mama, ha comenzado una nueva era en la forma de pensar y entender este grupo de enfermedades (Oncogenómica). Los trabajos de Perou y Sorlie, publicados en el año 2000, que estudian los patrones de expresión genética tumoral en cáncer de mama, sentaron las bases de la actual *clasificación molecular* al postular que los tumores se podían clasificar en subtipos de acuerdo con diferencias generalizadas en sus patrones de expresión génica (Luminales, Basal like, Normal like y HER2) y que ello estaba relacionado con su origen celular y comportamiento biológico.[3]

Hacia el año 2003, se realiza una modificación y se dividen los luminales en dos grupos, A y B, estableciéndose en cinco los subtipos moleculares de cáncer de mama.[4] En esta misma línea (*microarrays* o microarreglos de DNA), fueron desarrollándose y apareciendo en el mercado múltiples plataformas genéticas –como Mammaprint y Oncotype Dx entre las más conocidas–, que se fueron convalidando fundamentalmente para predecir pronóstico de recaída y necesidad de tratamiento adyuvante en cáncer de mama en estadios iniciales. El costo prohibitivo de estos estudios en la mayoría de los países llevó a buscar clasificaciones sustitutas basadas en las mucho más accesibles técnicas de Inmuno-Histoquímica (IHQ).

En 2011, el Consenso de St Gallen aceptó una clasificación sustituta basada en el estatus de los Receptores Hormonales y la actividad proliferativa (Ki 67, controvertido en ese momento).[5] Estas clasificaciones sustitutas basadas en la IHQ han ido sufriendo modificaciones a lo largo de los años y aún hoy no hay consenso unánime en cuanto a los grupos ni a los marcadores para definirlos. También demuestran una amplia variabilidad entre los distintos centros y laboratorios anátomo-patológicos, y su exacta correlación con los tests moleculares es muy discutida. Sin embargo, y a pesar de todos estos defectos, se les reconoce una mucho mejor correlación con el pronóstico y comportamiento biológico de la enfermedad que la, aún vigente pero perimida, clasificación por estadios TNM. Su utilización es aceptada y reconocida en todo el mundo porque, más allá de sus limitaciones, permiten dividir a las pacientes en grupos con diferentes pronósticos y necesidades terapéuticas particulares, lo que, al final de cuentas, es lo más importante.[6-7]

Por otro lado, los factores pronósticos clásicos, como el estado de los ganglios axilares –cuya importancia, si bien ha disminuido, aún permanece como relevante–, también han ido evolucionando rápidamente en los últimos años. En 2015, el panel de expertos de St Gallen concluyó que existe suficiente evidencia emanada de los estudios ACOSOG-Z0011 y Amaros como para considerar segura la práctica de no realizar vaciamiento axilar en pacientes seleccionadas con estadios iniciales y con hasta 2 ganglios centinela positivos que realizarán radioterapia con campos tangenciales posteriormente.[7] La técnica del ganglio centinela impuesta ya hace varios años como *gold standard* para axilas clínicamente negativas hoy está muy cuestionada y no pocos expertos le auguran un no muy lejano certificado de defunción.

En esta era, donde la clasificación molecular parece haber llegado para quedarse y donde la evaluación del estado axilar está en plena discusión, nos pareció interesante estudiar su relación y probables implicaciones en la práctica clínica.

Hoy contamos con varios factores predictivos de compromiso axilar tales como la edad, la localización, el tamaño del tumor, el grado histológico y la invasión linfovascular. El subtipo molecular intrínseco determinado por *microarrays* (plataformas genéticas) parece estar asociado con el pronóstico, la respuesta a tratamientos y el riesgo de recaídas locales.[8] Sin embargo, el impacto a nivel axilar del subtipo molecular intrínseco determinado por IHQ no ha sido bien establecido.[9] Por ello, nos preguntamos: el subtipo molecular ¿es o podrá ser un factor predictivo más?; el hecho de conocerlo previamente a la cirugía, ¿nos obligará a cambiar nuestra conducta con respecto a la axila?

El objetivo principal de nuestro trabajo es analizar la relación que presentan los distintos subtipos moleculares de cáncer de mama con el compromiso axilar en nuestra población. Como objetivos secundarios nos planteamos conocer la frecuencia de los distintos subtipos moleculares y algunas variables clínico-patológicas de los mismos como edad, tamaño tumoral y estadios de presentación.

Material y método

Se analizaron historias clínicas de pacientes operadas por cáncer de mama invasor en un centro privado de la Ciudad de Mar del Plata entre 2005 y 2015. Se evaluaron: la edad al momento del diagnóstico, el Tamaño Tumoral, el Estadio pTNM, el Tipo Histológico, el estado de Receptores Hormonales, HER2/NEU, el Grado Histológico y Ki 67 –a partir del año 2013– y el compromiso axilar metastásico. Se subdividió a los tumores en grupos de acuerdo con criterios de clasificación molecular sustituta por IHQ. Se analizó su frecuencia en la muestra y las mismas variables aplicadas a la población general y se compararon los datos obtenidos en cada uno de ellos.

Población estudiada

Para este estudio observacional, de cohorte, retrospectivo se incluyeron 214 pacientes con diagnóstico de Cáncer de Mama Invasor operadas entre 2005 y 2015 en el Servicio de Ginecología y Mastología de la Clínica 25 de Mayo de la Ciudad de Mar del Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina. Todos los datos utilizados fueron suministrados por los registros del Laboratorio de Anatomía Patológica de la Institución (Laboratorio de Anatomía Patológica (LABTAP), Laboratorio central de la Clínica 25 de Mayo de Mar del Plata).

Criterios de inclusión de las pacientes

• Operadas en el Servicio de Ginecología y Mastología de la Clínica 25 de Mayo de Mar del Plata entre el año 2005 y el año 2015 por tres cirujanos de ese servicio (Dres. Juan Pedro Begue, Pedro Begue y Hugo Blumetti).

• Diagnóstico de Cáncer de Mama Invasor realizado por el Servicio de Anatomía Patológica de la Institución.

• Presentar cirugía primaria con evaluación de compromiso axilar ya sea por ganglio centinela o linfadenectomía axilar.

• Se incluyen cirugías conservadoras y mastectomías con intención curativa.

• Estadios I, II y III, estadificación pTNM. Basado en el informe de Anatomía Patológica (Según American Joint Comittee Cancer. AJCC Manual, 7° Edición, 2010).

Criterios de Exclusión

• Estadios IV.

• Neoadyuvancia.

• Recurrencias.

Criterios para clasificación en subgrupos de acuerdo con IHQ

La definición de los distintos subtipos moleculares fue realizada con los datos obtenidos mediante Inmuno-Histoquímica (IHQ) y de acuerdo con las recomendaciones de St Gallen 2011/2013/2015.[6, 7-11]

La determinación de Ki 67 (que comenzamos a aplicar de rutina a partir de 2014) no era *standard* en gran parte del período abarcado, por lo cual, en las pacientes que no lo presentaban, se utilizó el Grado Histológico como parámetro de actividad proliferativa para discriminar los cánceres de tipo Luminal (como lo avalan varios estudios):[12, 13, 14-23] Luminal A (G1/2), Luminal B (G3). El punto de corte utilizado para definir alto y bajo índice de proliferación fue de 20%.

Variables analizadas

• *Edad*.

• *Tipo Histológico* (Según la OMS y el Colegio Americano de Patólogos).

• *Grado Histológico* (Nottigham Grading System):

Análisis estricto de tres componentes morfológicos del tumor, a los cuales se les da un valor o score de 1 a 3:

1. Formación glandular (acinar)/tubular.
2. Pleomorfismo o atipía nuclear.
3. Frecuencia de mitosis.

Luego de haber analizado los tres componentes histológicos (formación de glándulas/túbulos, pleomorfismo nuclear y número de mitosis) se deben sumar y se asigna el Grado Histológico general:

Grado 1: valores (scores) de 3-5.

Grado 2: valores (scores) 6 y 7.

Grado 3: valores (scores) 8 y 9.

Tabla I. Subtipos moleculares por IHQ

Subtipo molecular IHQ	R. Estrógeno	R. Progesterona	HER2	Ki67 o GH
Luminal A	+	+	-	Bajo/ 1-2
Luminal B/HER-	+	- /+	-	Alto/GH3
Luminal B/HER+ (Triple Positivo)	+	-/ +	+	Indistinto
HER2 (+)	-	-	+	
Triple Negativo	-	-	-	

• *Receptores Hormonales para Estrógeno y Progesterona* por Inmuno-Histoquímica.

• *HER2/NEU*:

Criterios de intensidad para determinar el score

- Expresión de HER2 NEU oncoprotein: *NEGATIVO* Score: *0*. Ausencia de tinción o tinción de membrana en menos del 10% de las células.

- Expresión de HER2 NEU oncoprotein: *NEGATIVO*. Score: *1*. Leve tinción de membrana en más del 10% de las células. Las células solo tiñen parte de la membrana.

- Expresión de HER2 NEU oncoprotein: *DÉBILMENTE POSITIVO*. Score: *2*. Tinción leve a moderada completa de la membrana en más del 10% de las células tumorales.

- Expresión de HER2 NEU oncoprotein: *FUERTEMENTE POSITIVO*. Score: *3*. Tinción fuertemente positiva y completa de la membrana en más del 10% de las células tumorales.

Se considera *Positivo* un score de 3:+++; con 2:++ se indica técnica de FISH para confirmación.

• *Ki 67*: El estudio inmunohistoquímico se realiza con un anticuerpo monoclonal pre diluido contra el antígeno Ki-67 (clon Ki88) con Kit de BioGenex para establecer expresión nuclear del mismo en todas las células proliferantes durante las fases G-1 tardía, S, M y G-2 del ciclo celular (ausente en fase G0).

• *Status Axilar*: se consideró positivo para metástasis axilar a la presencia de toda célula neoplásica evidenciable en cualquier ganglio analizado por técnica de H/E (no a las Células Tumorales Aisladas, CTA).

• *Tamaño Tumoral*: de acuerdo con el informe de Anatomía Patológica.

• *Estadificación pTNM* (Según AJCC, American Joint Comittee Cancer 7° Edición Manual 2010).

Resultados

Se incluyeron en este trabajo 214 pacientes que cumplieron todos los criterios de inclusión antes mencionados.

• El promedio de *edad* al diagnóstico fue de 62,81 años. Rango de 35-91. (Gráfico 1)

No se obtuvo el estado menopáusico pero, si tomamos un punto de corte en 50 años aproxidamente para calcularlo, nuestra población fue:

Gráfico 1. Distribución de la edad de la población de la muestra

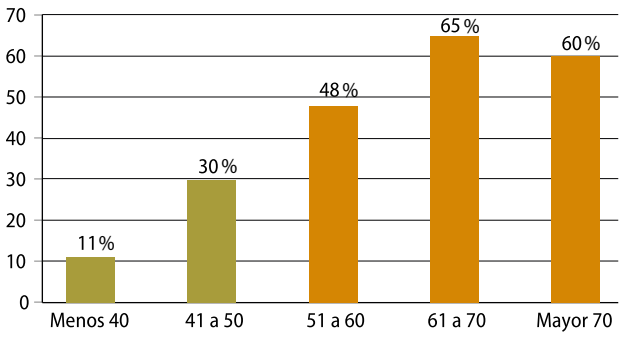


Gráfico 2. Tipos Histológicos de la población de la muestra

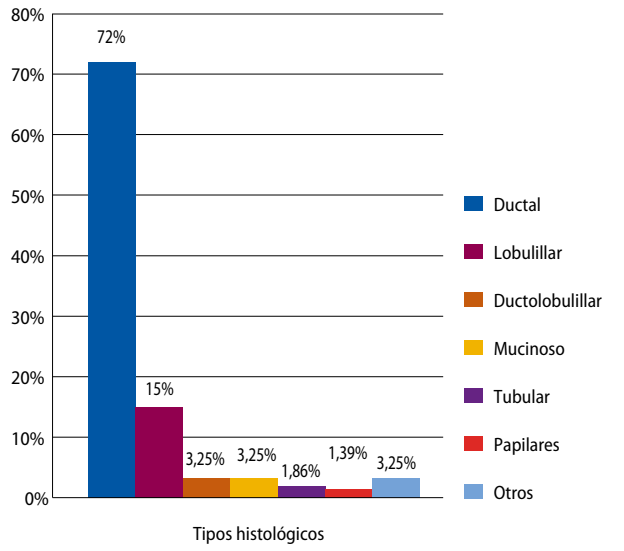


Tabla II. Distribución de los tamaños tumorales de la población de la muestra

T1 (57%)	T2 (29,3%)	T3 (6%)	T4 (7,4%)
a: 20			
b: 35			
c: 67			
122	**63**	**13**	**16**

Menor a 50 años: 41 (19,1%)

Mayor a 50 años: 173 (80,9%)

• *Sexo*: 212 mujeres; 2 hombres.

• *Distribución*: Mama Izquierda: 103/Mama Derecha: 111.

• *Tipos Histológicos*: Ductales 153 (72%); Lobulillares 33 (15%); Mucinosos 7; Ductolobulillares 7; Tubulares 4; Papilares 3; y otros 7 (neuroendocrinos, cribiformes, adenoescamosos, comedocarcinoma). (Gráfico 2)

• *Tamaño Tumoral* promedio: 22,49 mm.

La distribución de los tamaños tumorales fue la que se muestra en la Tabla II.

• La distribución por *estadios pTNM* fue:

Estadio I: 103 (48%) [100/Ia - 3/Ib]
Estadio II: 79 (36,9%) [43/IIa - 36/IIb]
Estadio III: 32 (14,9%) [13/IIIa - 15/IIIb y 4/IIIc]

• El número de *axilas positivas* fue de 68 (31,7%):

N1: 51 N2: 13 N3: 4

• La *distribución por subtipo* arrojó los siguientes resultados: (Gráfico 3)

-Luminal A: 122 (57%)

-Luminal B: 50 (23,3%)

-Luminal B/HER2 o Triple Positivo: 16 (7,4%)

-Triple Negativo: 17 (7,9%)

-HER2+: 9 (4,2%)

Gráfico 3. Frecuencia de los subtipos moleculares (IHQ) de la población de la muestra

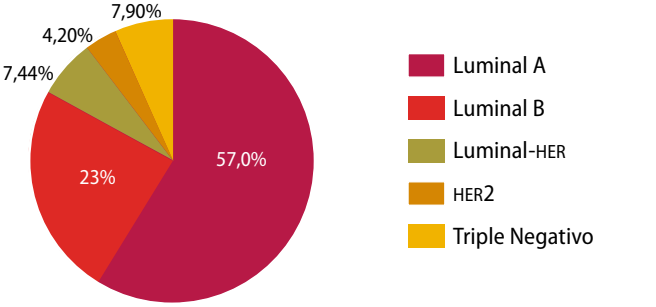
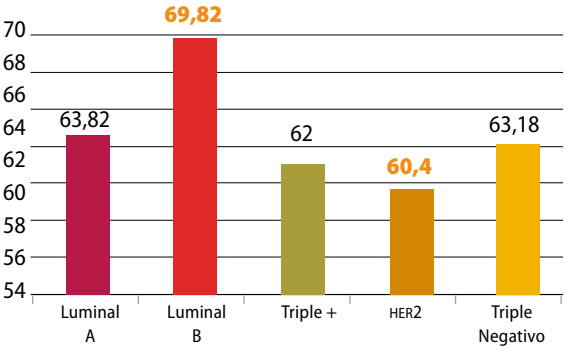


Tabla III. Resumen de las características de la población de la muestra

Total pacientes	Edad promedio	Tipos Histológicos	T. Tumoral promedio (mm)	Axilas +	Estadios pTNM	Subtipos IHQ
214	62,81	Ductal 72%	22. 49	68 (31,7%)	I: 48%	Lum. A 57%
	RANGO 36/91	Lobulillar 15%	T1: 57%	N1: 51	II: 36,9%	Lum. B 23%
	Menores 50: 19,1%	Mucinosos, Ductolobulillares, Tubulares, Papilares y otros 13%	T2: 29,3%	N2/ N3(4): 17 (25%)	III: 14,9%	Triple Neg. 7,9%
	Mayores de 50: 80,9%		T3: 6%			Triple + 7,4%
			T4: 7,4%			HER2: 4,2%

Gráfico 4. Edad promedio de los subtipos moleculares (IHQ)



Comparación de variables entre los subtipos

Si comparamos las variables recolectadas entre los diferentes subgrupos observamos que, en cuanto a *edad*, los Luminales A, Triples Negativos y Triples + o LuminalB/HER no arrojaron diferencias, siendo las pacientes Luminales B, con bastante diferencia (6-7 años), las de más edad promedio, y las HER2 las de menor edad al momento de la cirugía. (Gráfico 4)

Si comparamos los *tamaños tumorales* entre los subgrupos, solo los Luminales A se presentaron en promedio por debajo de los 2 cm y por debajo de la media de la muestra (22,49 mm). Los subgrupos Triple +/LuminalB/HER y HER2+ superaron por más del doble a los Luminales A. (Gráfico 5)

Si analizamos los *compromisos axilares* en los distintos subtipos y los comparamos con la muestra, observamos que los HER2 + son los de menor riesgo, con el 11%, seguidos por los Luminales A con casi 21% y luego por los restantes grupos (Luminal B-Luminal B/HER2+) con 50% y los Triple Negativos con el mayor porcentaje de compromiso con un 53%. (Gráfico 6)

Gráfico 5. Tamaño tumoral promedio de los distintos subtipos moleculares (IHQ)

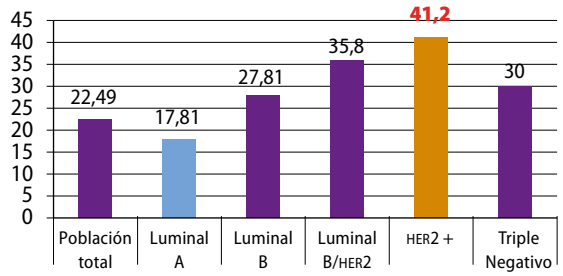
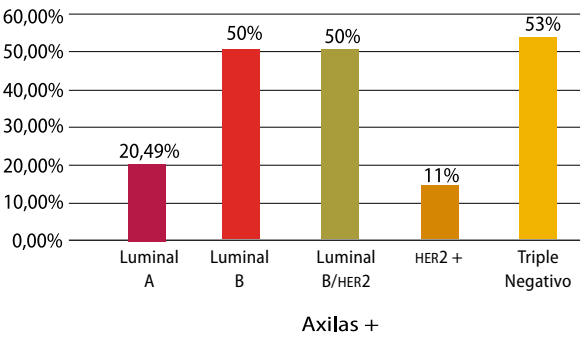


Gráfico 6. Compromiso axilar en los distintos subtipos moleculares (IHQ)

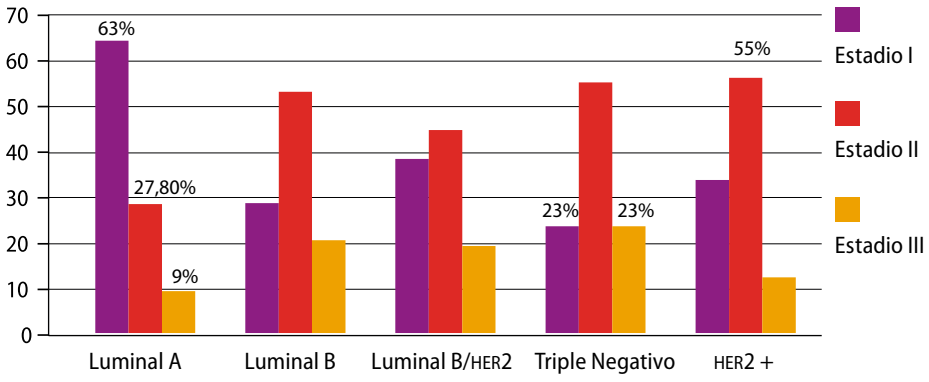


En cuanto al grado de *compromiso axilar,* en 8 pacientes se obtuvo diagnóstico de micrometástasis en ganglio centinela; en todas se realizó vaciamiento axilar, no hallándose en ninguna paciente otro ganglio comprometido.

Si analizamos la cantidad de ganglios comprometidos, sobre 17 pacientes N2/N3, 7 eran Luminal B y 5 Luminal B/HER2 o Triple Positivo, y de 4 N3, 3 eran Luminal B. Por lo tanto, el 41,17 % de los tumores N2/N3 corresponde a un subtipo tumoral cuya frecuencia en la muestra es del 23% (Luminal B) y, si lo sumamos a los Triple +–que serían el 29% de los N2/N3–, tendríamos que el 30% de la muestra (Luminal B 23% + Luminal B/HER2 7,44%) es responsable del 70 % de las metástasis axilares en 4 ganglios o más.

Si vemos los *estadios* donde se combinan los Tamaños Tumorales con el grado de compromiso axilar, observamos que solo en los Luminales A predominan ampliamente los Estadios I (63%), siendo los Triple Negativos el subgrupo con menor porcentaje de esos estadios –con el 23%–. Coincidiendo con esto, este último grupo también es el que encabeza los Estadios III, con el 23% de los tumores. Los Estadios II se reparten en forma más pareja, abarcando aproximadamente la mitad de los tumores en los tipos HER2, Triple Negativo y Luminal B. (Gráfico 7)

Gráfico 7. Estadios de presentación por subtipo molecular (IHQ)



En cuanto a los *Tipos Histológicos,* los lobulillares presentaron un porcentaje de axilas positivas muy por encima de la muestra (31,7%): el 42,5%, a pesar de que el 54% de los mismos eran Luminales A.

En la Tabla IV se presenta el resumen de la comparación de las variables en los distintos subtipos.

Tabla IV. Resumen de las variables analizadas de cada subtipo

Subtipo	Luminal A (122)	Luminal B (50)	Triple Negativo (17)	Triple + (16)	HER2 (9)
Edad promedio	63,82 (36-91)	69,82 (37/87)	63,18 (37-80)	62 (35-84)	60,4 (39-86)
Tamaño promedio en mm	17,81	27,81	30	35,8	41,2
Axilas +	20,49% (25)	50% (25)	53% (9)	50 (8) 5: N2!!!	11% (1)
Estadios pTNM	I: 63,11% 77 (74a/3b)	I: 28% 14 (13a/1b)	I: 23% 4 (4a)	I: 37,5% 6 (5a-1b)	I: 33% 3 (2a/1b)
	II: 27,8% 34 (21a/13b)	II: 52% 26 (12a/14b)	II: 54% 9 (4a/5b)	II: 43,75% 7 (4a/3b).	II: 55% 5 (2a/3b)
	III: 9% 11 (4a/6b/1c)	III: 20% 10 (4a/3b/3c)	III: 23% 4 (1a/3b)	III: 18,75% 3 (3a)	III: 12%, 1 (1b)

Observaciones por subgrupo (Tabla IV)

Luminal A: Es el grupo más numeroso (57%); con el menor Tamaño Tumoral promedio 17,81 mm; con bajo compromiso axilar (20,5%) –por debajo del 31% del total de la muestra–; el 63% se presentó como Estadio I; del total de 25 tumores con Mts axilar: 1 pN3, 3 pN2 y 21 pN1; seis fueron T1, todos N1.

Luminal B: Grupo de edad más avanzada; alto compromiso axilar con 50% (25) de mts. axilares, de los cuales el 28% (7) presentaron más de 3 ganglios comprometidos; a este grupo pertenece el 75% de los pN3a de la población analizada (10 o más ganglios comprometidos).

Triple Negativo: es el grupo de mayor compromiso axilar, con el 53%, y de Estadio más avanzado al momento de la presentación: E I y III: 23%.

Triple + o *Luminal B/HER2+:* Es un grupo con gran compromiso axilar, ya que el 50% presentó mts. axilares y, de ellos. el 62,5% con más de 3 ganglios comprometidos pN2/N3.

HER2 +: es el grupo más joven, con 60,4 años; es el de mayor tamaño tumoral, con 41,2 mm de promedio, y el de menor compromiso axilar 11% (!!); 3 pacientes HER2 + de 100, 89 y 80 mm con axila negativa en un grupo tan pequeño (9) marcan esta tendencia de subgrupo con gran Tamaño Tumoral y bajo compromiso axilar.

Discusión

Analizando nuestro datos y la bibliografía publicada sobre el tema subtipos moleculares y compromiso axilar, observamos que es muy difícil comparar resultados dada la gran heterogeneidad de los estudios. No

hay una clasificación única a la cual referirse: las hay con cuatro grupos: Luminal A, Luminal B, HER2 y Triple Negativo; las hay de cinco grupos que separan los Luminales B en dos subgrupos según presenten o no sobreexpresión para HER2; las hay basadas en Microarreglos de ADN; las hay basadas en Inmuno-Histoquímica.

Tampoco existe unanimidad para dividir los grupos, principalmente los luminales. ¿Es el Ki 67 el marcador de proliferación ideal? ¿Debería existir un punto de corte para alta y baja proliferación? ¿Cuál es ese punto de corte? ¿Los Triple Negativos deben ser considerados igual que los Basal like? ¿Es necesario realizar citoqueratina de alto peso molecular para definirlos con precisión? Además, los estudios retrospectivos como el nuestro todavía necesitan usar parámetros de proliferación distintos al Ki 67 ya que, hace unos años, no se contaba con ese marcador de rutina. Existe bibliografía contrapuesta acerca de la utilidad del Grado Histológico para este fin.[5, 13, 14, 23] A esto se suma la subjetividad de la medición y la variabilidad en los resultados de estos dos parámetros.

La medición de los Receptores Hormonales y su proporción para ser considerados positivos también han sufrido cambios en los últimos años y contribuyen a la falta de homogeneidad en los trabajos. Tampoco es perfecta –ni mucho menos– la correlación entre la clasificación molecular original de Perou,[3] las modificaciones de Sorlie[4] basadas en estudios con *microarrays* de ADN tumoral y la clasificación molecular sustituta mediante IHQ. Todo esto demuestra que existen muchos interrogantes y pocos consensos globales sobre este tema.

Aclarado este punto y creyendo firmemente que este es el camino a seguir y perfeccionar a futuro, correlacionamos nuestros resultados con la bibliografía e intentamos sacar nuestra propias conclusiones.

Nuestra población de pacientes evidenció una edad promedio por encima de los registros públicos nacionales más importantes (57,7 años) pero acorde a centros privados referenciales y registros epidemiológicos de Bahía Blanca.[15, 13, 16, 17] El 80% de la misma post-menopáusica nos ilustra un perfil de población teóricamente con factores pronósticos, en este caso de compromiso axilar, más favorables (actividad proliferativa, tamaño, RH+). La proporción de tumores ductales (72%) y lobulillares (15%) es acorde a la bibliografia.[18, 19] El tamaño tumoral (22,49 mm) y el compromiso axilar del 31% también son coincidentes con series nacionales.[17] Todo ello nos garantiza que es una muestra representativa adecuada para comparar con otras series sobre el tema.

La frecuencia de los distintos subtipos muestra una amplia variabilidad en la bibliografía, principalmente en lo referente a los Luminales B, quizás el grupo más problemático debido a sus criterios para definirlo.

Nosotros, usando el criterio aceptado por St Gallen 2011 y 2013, los separamos entre Luminal B y Luminal/HER2 o Triple Positivo, pero con una alta proporción de discriminación por Grado Histológico al no contar en todos los casos con Ki 67 (de rutina a partir del año 2014).

En términos generales, tener un 80% de tumores luminales es acorde a lo publicado en las grandes series, aunque nuestro porcentaje de Luminales B (23%) se encuentra bastante por encima de las habituales referencias que informan entre 7 y 13%, aproximadamente.[20, 21, 22, 17, 13] Creemos que esto se debe, en parte, al pequeño número de la muestra –que al crecer incrementará sustancialmente los Luminales A normalizando la proporción, ya que el punto de corte de 20% para Ki 67 utilizado por nosotros no es inferior a la mayoría de los estudios– y a la alta proporción y quizás baja sensibilidad del Grado Histológico para diferenciar los luminales. En cuanto a los Luminales B/HER2 o Triples Positivos, nuestro número (7,44%) es ligeramente inferior a las series que utilizan nuestro mismo criterio.[13, 23] La proporción de tumores HER2+ del 11,6% se muestra un poco por debajo del 13,2% presentado por el Programa Nacional de Detección en el año 2012, pero con tendencia creciente en los últimos años –probablemente por la mayor experiencia de nuestros patólogos–.[24] Por último, los Triple Negativos con su 7,9% no están tan alejados del 10-15% históricamente descripto para este grupo y coincide con una serie del Hospital Italiano que describe un 8,4%.[25, 17]

Además de evaluar el compromiso axilar entre los distintos subtipos moleculares, objetivo primario del estudio, se tomaron en cuenta dos factores predictivos conocidos, como edad y tamaño tumoral para ver su correlación.

Si observamos las diferencias más significativas entre los distintos subtipos moleculares IHQ, encontramos que el grupo de edad más añoso curiosamente fue el Luminal B (69,82), grupo definido como de alta proliferación y que, por ello, imaginábamos más joven. El resto se mostró parejo, siendo el grupo HER2+ el más joven con 60 años.

En cuanto al tamaño tumoral, con casi el doble que el promedio de la muestra, el grupo HER2+ –con 41,2 mm– marcó diferencias amplias sobre el resto, principalmente contra los 17 mm de los Luminales A.

Cuando analizamos el compromiso axilar por subtipo, nos encontramos que. como era esperable por sus variables de buen pronóstico, el Luminal A –como en todos los estudios– presenta un bajo compromiso, con el 21%. El Triple Negativo se presenta como el de mayor compromiso, con el 53% (lo que no coincide con varios estudios que lo muestran como el de menor compromiso e inclusive sugieren otra vía de diseminación para explicar su peor pronóstico y alto riesgo de metástasis a distancia),[26, 27, 17] no muy

lejos de los Luminales B y Luminal B/HER2, que ostentan el 50%. Estos dos grupos llaman la atención por su alta proporción de axilas comprometidas con más de 3 (Luminal B/HER2: 62,5% !!!!) y 10 ganglios (Luminal B: 75% de todos los tumores con 10 o más ganglios, pN3a). La sorpresa la marca el grupo HER2+ que, siendo el de mayor tamaño tumoral y menor edad, muestra un bajísimo 11% de compromiso axilar. Creemos que este dato se debe al peso que tienen 3 pacientes con gran tamaño tumoral (100, 89 y 80 mm) y axila negativa en un total de 9 (muestra muy pequeña).

Conclusiones

De acuerdo con lo expuesto, creemos que la clasificación molecular es un gran paso hacia la mejor comprensión de esta enfermedad. También nos parece que la clasificación molecular sustituta por IHQ es útil, aunque no debe ser equiparable a la realizada por *microarrays* de ADN ni sean comparables sus resultados. Aún existen múltiples factores/parámetros a consensuar para que todos hablemos de lo mismo cuando nos referimos a los distintos subtipos. El futuro está claramente por ese camino, seguramente encontrando más factores diferenciales entre los tumores del mismo grupo que obliguen a tratamientos cada vez más a medida. La heterogeneidad ya no es solo del cáncer de mama en general, ni de los distintos subtipos moleculares, sino del mismo tumor; ¿no existiría un tumor igual a otro?[28]

Nuestros resultados confirman el buen pronóstico de los Luminales A, el comportamiento agresivo de los Triple Negativos (hoy en discusión a nivel axilar), el gran tamaño de los HER2+ y el mayor grado de compromiso axilar de los Luminales B (tanto HER2 negativos como Triple Positivos).

Analizando nuestros datos, existen dos puntos a revisar a futuro que no coinciden con la bibliografía referente: el alto porcentaje de Luminales B y el bajo compromiso axilar de los HER2+. Si bien el bajo número de la muestra exagera aún más estos valores, deberemos trabajar para corregir probables errores en estos puntos.

Finalmente y contestando a la pregunta que nos hiciéramos al diseñar el trabajo, concluimos que el conocimiento del subtipo molecular intrínseco (IHQ) aún no debería hacernos cambiar la conducta con respecto al manejo de la axila –aunque es un factor importante a tener en cuenta– porque no parece cumplir todavía los requisitos para ser un factor predictivo independiente de compromiso axilar confiable. Solo los tumores Luminales A nos permitirían cierta relajación y podrían ser plausibles de un manejo más conservador, acorde a las evidencias del estudio Amaros y ACOSOG-Z0011.

Referencias

1. Globocan 2012. OMS: International Agency of Research Cancer. Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence in WorldWide, 2012.
2. Instituto Nacional del Cáncer. Ministerio de Salud de la Nación. Estadísticas.
3. <htpp//http://www.msal.gob.ar/inc/index.php/acerca-del-cancer/estadisticas>.
4. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406: 747-752.
5. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, Deng S, Johnsen H, Pesich R, Geisler S *et al.* Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100 (14): 8418-8423.
6. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thurlimann B, Senn HJ. 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 Off J Eur Soc Med Oncol/ESMO* 2011: 22 (8): 1736-1747.
7. Gnant M, Harbeckb N, Thomssen C. St. Gallen 2011: Summary of the Consensus Discussion. *Breast Care* 2011; 6: 136-141. Published online: April 29, 2011.
8. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M. Tailoring therapies-improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Annals of Oncology* 2015; 00: 1-14. doi:10.1093/annonc/mdv.
9. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proct Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10869-74.
10. Liu *et al.* Unexpected features of breast cancer subtype. *World Journal of Surgical Oncology* 2015; 13: 249.
11. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, Senn HJ. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Annals of Oncology* 2013; 1-18. doi:10.1093/annonc/mdt303.
12. Rudat V, El-Sweilmeen H, Brune-Erber I, Nour AA, Almasri N, Altuwaijri S, Fadel E. Identification of breast cancer patients with a high risk of developing brain metastases: a single institutional retrospective analysis. *BMC Cancer* 2014; 14 (1): 289.
13. Kast K, Link T, Friedrich K. Impact of breast cancer subtypes and patterns of metastasis on outcome. *Breast Cancer Res Treat* 2015; 150: 621-629.
14. Von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA, Gerber B, Eiermann W, Hilfrich J, Huober J *et al.* Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol* 2012; 30 (15): 1796-1804.
15. Eidenson GP, GuscelliC, Godoy, GM. Epidemiología del cáncer de mama. Incidencia en la Región Sanitaria I de la Provincia de Buenos Aires y Partido de Bahía Blanca entre 1989 y 2002. *Revista Argentina de Mastología* 2010; 29 (105): 323-338.
16. Elizalde R, Bustos J, Barbera L, Müller Perrier G, Naso B, Loza J, Storino C, Horton G, Castaño R, Urrutia A, Avegno AM, Barchuk SG. Características epidemiológicas del Cáncer de Mama en el Área Metropolitana de Buenos Aires y La Plata. Estudio de una serie de 4.041 casos del Registro de Cáncer de Mama (RCM). *Revista Argentina de Mastología* 2013; 32 (116): 253-268.
17. Allemand C, Corrao F, Orti R, Zamora L, Ilzarbe F, Riggi C, Piccolini J, Wernicke A, Gogorza S, Lorusso C. Impacto de los subtipos intrínsecos del cáncer de mama en la predicción de metástasis en los ganglios axilares. *Revista Argentina de Mastología* 2014; 33 (121): 438-447.
18. Li Ci, Anderson Bo. Trends in incidence rates of invasive lobular and ductal breast carcinoma. *Jama* 2009: 289; 1421-1424.
19. Tabares G, Benítez Gil L, Mignini L, Benítez Gil A, Álvarez Gardiol A. Carcinoma Lobular Invasivo *versus* Carcinoma Ductal Invasivo. Evaluación de resultados del tratamiento conservador. ¿Es necesaria una nueva modalidad de evaluación preoperatoria? *Revista Argentina de Mastología* 2014; 33 (119): 138-146.

20. Blows FM, Driver KE, Schmidt MK *et al.* Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *PLoS Med* 2010; 7 (5): e1000279. ◄

21. Bosch C. Lain J, Torras M *et al.* Características epidemiológicas e histopatológicas de los subtipos moleculares de cáncer de mama. 30° Congreso de SEGO, 2009. En <www.sego>. ◄

22. Millar EK, Graham PH, O'Toole SA *et al.* Prediction of local recurrence, distant metastases, and death after breast-conserving therapy in early-stage invasive breast cancer using a five-biomarker panel. *J Clin Oncol* 2009; 27 (28): 4701-8. ◄

23. Tamimi RM, Colditz GA, Hazra A, Baer HJ. Traditional Breast Cancer Risk Factors in Relation to Molecular Subtypes of Breast Cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2012, January; 131 (1): 159-167. doi:10.1007/s10549-011-1702-0. ◄ ◄ ◄

24. Cáceres V, Acosta G, Sarancone S, Arra A, Paradelo M, López Presas A, Bravo I, Martins D, Marraco G, Lago N, Calafat P, Mosto J, Zoppi J, Glatstein T, Martínez MU, Palazzi J, Frahm I. Programa Nacional de Diagnóstico de la Sobreexpresión de HER2 en acientes con Cáncer de Mama. *Revista Argentina de Mastología* 2012; 31 (110): 8-22. ◄

25. Korbenfeld E. Características clínicas y tratamiento actual del cáncer de mama subgrupo Triple Negativo. *Revista Argentina de Mastología* 2009; 28 (99): 144-151. ◄

26. Zhen-Yu He, San-Gang Wu, Qi Yang. Breast Cancer Subtype is Associated With Axillary Lymph Node Metastasis. A Retrospective Cohort Study. *Medicine* 2015; 94 (48). ◄

27. Crabb SJ, Cheang MCU, Leung S. Basal Breast Cancer Molecular Subtype Predicts for Lower Incidence of Axillary Lymph Node Metastases in Primary Breast Cancer. *Clinical Breast Cancer* 2008; 8 (3): 249-256. doi 10.3816/CBC. ◄

28. Reis-Filho JS. Clasificación molecular del cáncer de mama más allá de los subtipos intrínsecos. *Revista Argentina de Mastología* 2013; 32(117): 355-366. ◄

Debate

Dr. Coló: Queda a consideración el trabajo expuesto. En los últimos años creo que todos nos hemos preocupado e interesado por el subtipo molecular de los tumores y si este subtipo molecular del tumor influía en la toma de decisión quirúrgica frente al paciente. No hemos encontrado una respuesta, porque en todos los trabajos que uno lee son muy dispares los resultados. Uno lee trabajos donde se refiere mayor o menor compromiso axilar. En el caso de Uds., probablemente el hecho de que el HER2 les haya dado bajo compromiso axilar se deba al *n* estudiado; con ese número sacar conclusiones es mucho más difícil. Probablemente, el subtipo molecular y el estado ganglionar nos permitan inicialmente comenzar con quimioterapia neoadyuvante en los tumores HER2 positivos con punción axilar positiva; en estos pacientes, sería tal vez interesante empezar con neoadyuvancia, negativizar la axila, negativizar el tumor de la mama y ver qué evolución tiene posteriormente.

Dr. Nervo: No solo a los que tienen axila comprometida. Hoy tratamos de indicar quimioterapia neoadyuvante a HER2 positivos aun en estadios más tempranos; es decir, los tumores palpables podrían ser derivados a neoadyuvancia. No sé qué tratamientos posteriores hicieron estas pacientes. Es cierto lo que dice el Dr. Coló: es rara la presencia de HER2 con tan bajo compromiso axilar. A mí me parece que también están sobredimensionados los Luminales B, porque también los definían inicialmente por el Grado Histológico 3, que ya es un parámetro que no define los Luminales B; es posible que tengan un componente alto de Luminales B por esta razón.

Dr. Begue: En cuanto a los HER2, las 3 pacientes que marcaron un poco fueron obviamente a mastectomías por los tamaños, y no hubo falsos negativos en cuanto a la evaluación de la axila; dos fueron pacientes mías. Llamó la atención, porque en todos los registros y en todos lados son los de mayor compromiso axilar; así que, obviamente, también creo que se iría tamizando a medida que fuera aumentando la cantidad de pacientes. En cuanto a los resultados de los Luminales B, nos llamó un poco la atención, aunque, viendo luego algunos otros artículos, es muy heterogéneo; probablemente sea por el grado histológico. Es decir, creo que hoy, por lo menos en nuestro medio, casi todos los que hacemos estudios retrospectivos tenemos que usar el grado histológico para llegar a tener una determinada casuística. Seguramente tiene que ver con cómo se dividieron los luminales.

Dra. Victoria: Creo que es un esfuerzo muy grande recolectar todos esos datos en forma retrospectiva. El problema de establecer un score predictivo, pronóstico, con Inmuno-Histoquímica no es inherente al trabajo de Uds.; en realidad, es el problema que tenemos todos los días los oncólogos para decidir una adyuvancia en pacientes luminales con axila negativa; y es que, en verdad, los subtipos moleculares, como bien mostraste, se definen por *microarrays* y la correlación con Inmuno-Histoquímica es pobre, principalmente por error del método de realización de Ki67. Si bien hay guías, es muy heterogénea la realización y es muy difícil uniformar esos resultados; ni siquiera hay un acuerdo con el punto de corte. Entonces, es muy difícil saber, en esos tumores que caracterizamos como luminales, cuáles claramente son Luminales B o A; además, es tan distinto y heterogéneo el comportamiento. Todavía hoy hay dificultad o heterogeneidad con otros métodos más establecidos, como la Inmuno-Histoquímica, para HER2 y demás es mucho más difícil.

Dr. Begue: Hoy en día los dos grandes grupos son Luminales *versus* el resto; después, seguramente el futuro irá discerniendo entre los luminales.

Dr. Coló: Al final de tu trabajo hiciste un comentario con respecto al Z11 y los Luminales A. Hay un trabajo recientemente publicado con un subanálisis de este grupo donde se incluyen pacientes con Triple Negativo y con HER2 y el resultado fue exactamente lo mismo, igual de los luminales. Quiere decir que, más allá de si es un Luminal o un HER2, el Z11 uno podría extrapolarlo también a cualquier subtipo molecular.

Dr. Begue: Creo que el Z11 no estratificaba por subtipos.

Dr. Coló: Muchas gracias.