

Luminal B. Factor pronóstico y predictivo del Ki67

Ornella Sturla, Celeste*

*Frascaroli,** Natalia Santiso,***

*María Luján Crosbie,****

*Anabela Ursino,****

*Alicia Amato,*****

*Mirta Calissano******

RESUMEN

Introducción

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea; tumores con factores pronósticos similares presentan diferente evolución, lo que hace suponer que la diferencia es molecular. El antígeno de proliferación celular Ki67 es un factor clave que representa la actividad mitótica celular.

Objetivos

Analizar el subtipo Luminal B y el valor del Ki67, evaluando su relación con los factores pronósticos y predictivos clásicos, y determinar su utilidad para subclasificar grupos moleculares en función del mismo.

Material y métodos

Estudio descriptivo, retrospectivo, analítico observacional. Se revisaron 520 fichas de patología mamaria pertenecientes al Hospital Churruca y al Sanatorio Corporación Médica General San Martín, en el período comprendido entre enero 2010-enero 2015. Fueron analizadas 82 pacientes subtipo Luminal B, con Ki67 elevado.

Resultados

La mediana de expresión del Ki67 fue de 25,9% y del 34% en las pacientes recaídas.

* Patología Mamaria del Sanatorio Médico Corporación General San Martín. Ginecología, Policía Federal Argentina.

** Ginecología, Sección Patología Mamaria del Hospital Churruca-Visca.

*** Ginecología, Sección Patología Mamaria del Hospital Churruca-Visca. Patología Mamaria del Sanatorio Médico Corporación General San Martín.

**** Ginecología del Hospital Churruca-Visca.

***** Patología Mamaria del Sanatorio Médico Corporación General San Martín.

Correo electrónico de contacto:
orne16@yahoo.com

Discusión

Se observó relación proporcional del Ki67 con el tamaño tumoral y el grado histológico.

Conclusiones

El Ki67 debe ser analizado en la práctica diaria por patólogos expertos, a fin de predecir el comportamiento frente a tratamientos adyuvantes de una manera más certera, adecuando la terapéutica a cada paciente.

Palabras clave

Cáncer de mama. Luminal B. Expresión de Ki67.

SUMMARY

Introduction

Breast cancer is a heterogeneous disease; tumors with similar prognostic factors have different evolution, which suggests that the difference is at the molecular level. The proliferation antigen Ki67 is a key factor that represents the cell mitotic activity.

Objectives

Analyze Luminal B subtype and the value of Ki67, evaluating its relationship with prognostic and predictive factors conventionally used. Determine its usefulness for subclassified different molecular groups.

Materials and method

Observational analytical retrospective study. We reviewed 520 breast cancer files belonging to Churruca Hospital and Sanatorio Corporación Médica General San Martín in the period between January 2010- January 2015. We analyzed 82 patients Luminal B subtype with high Ki67.

Results

The median expression of Ki67 was 25.9 % and 34% in patients with relapsed.

Discussion

We found proportional relationship between the value of Ki67 with tumor size and histologic high grade.

Conclusions

The Ki67 must be analyzed in daily practice validated by expert pathologists in late predict behavior towards adjuvant treatments in a more accurate way available, adapting to each patient therapeutic methods.

Key words

Breast cancer. Luminal B. Ki67 expression.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es la primera causa de muerte por cáncer en la mujer en los países industrializados. En los últimos años, su incidencia aumentó a razón de 1-2% anual,¹ conformando un problema de salud pública.

En Argentina, es la primera causa de muerte por tumores en mujeres. Anualmente, se producen 5.600 muertes y 19.000 nuevos casos, lo cual representa el 16,8% del total de incidencia de cáncer en Argentina.² Existe una incidencia en ascenso en los últimos 30 años, tanto por el aumento en la esperanza de vida, como por la mayor detección gracias a los programas de *screening*.³

Debido a la sustancial heterogenicidad biológica del cáncer de mama, este ya no es considerada una sola enfermedad en sí misma,⁴ puesto que se conocen innumerables alteraciones genéticas posibles.⁵

La decisión sobre qué pacientes deben recibir tratamiento adyuvante se establece sobre la base de criterios clínicos y patológicos llamados factores pronósticos y predictivos.⁶ Los factores pronósticos clásicos utilizados en cáncer de mama han permitido seleccionar a aquellas pacientes que se beneficiarían de la quimioterapia. Dichos factores son: la edad de presentación, el tamaño tumoral, el compromiso axilar, el tipo y grado histológico.⁷ Los factores predictivos indican la respuesta probable a una terapia determinada³ y son: la presencia de receptores hormonales y la sobreexpresión del HER2.⁸

Un marcador biológico debe tener reproducibilidad de su estudio, facilidad para recolección de la muestra, asociación con la enfermedad, estar fuertemente relacionado con el crecimiento tumoral y predecir la respuesta al tratamiento.³ El estrógeno y la progesterona son hormonas esenciales para el crecimiento de la glándula mamaria; son factores de transcripción inducibles, los cuales se activan en presencia de su ligando específico. El aporte de la determinación mediante inmunohistoquímica (IHQ) del Receptor Estrogénico (RE), el Receptor de Progesterona (RP) y, pos-

teriormente, del antígeno de proliferación celular Ki67 y del HER2 permitió identificar distintos subgrupos moleculares.⁹

De la misma manera, las herramientas genómicas resultan predictivas del beneficio que aporta la quimioterapia adyuvante en determinados pacientes.

El subtipo Luminal abarca a todos los tumores que marcan receptores hormonales con ausencia de HER2; representan un 75 a 80% del total.¹⁰ Son tumores de bajo grado, hormonosensibles y con mejor supervivencia global en comparación con los Basales y los HER2, que son más sensibles a la quimioterapia.³

El Luminal B/HER2 representaría el RE+ y HER2+++ del cáncer de mama;¹¹ sin embargo, solo el 10 al 20% tienen HER2 sobreexpresado por inmunohistoquímica. Aproximadamente un 30% de los tumores HER2 definidos por IHC son asignados al subtipo Luminal B.¹²

Aunque las definiciones respecto del subtipo Luminal B varían, la clave parece estar relacionada con la expresión de genes de proliferación celular,¹³ cuyos marcadores pueden separar los tumores RE+ HER2- en al menos dos grupos pronósticos:¹⁴ un grupo de buen pronóstico, con baja expresión de genes de proliferación celular; y un grupo de mal pronóstico, con mayor proliferación celular.¹⁵

El uso del marcador de proliferación nuclear Ki67 como factor pronóstico y predictivo es discutido, debido fundamentalmente a la falta de consenso sobre el valor de corte y a la amplia variedad de interpretación interlaboratorio. Altos niveles de Ki67 predicen una mejor respuesta al tratamiento con quimioterapia y mayor probabilidad de recaída tumoral en estadios tempranos, independientemente de la afectación axilar.⁷

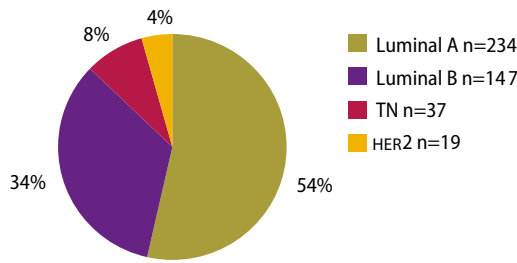
OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es evaluar en nuestra serie la relación entre el Ki67 y cada uno de los demás biomarcadores clásicos utilizados en el cáncer de mama, para analizar la trascendencia del nivel de expresión Ki67 como factor pronóstico en esta patología, generando diferentes subgrupos arbitrarios dentro del Luminal B acorde al porcentaje de expresión del mismo.

MATERIAL Y MÉTODO

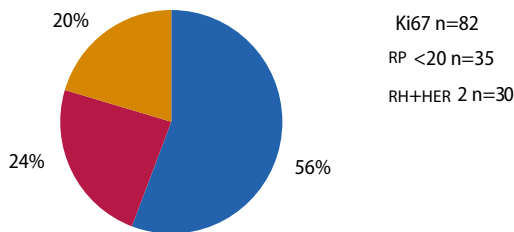
Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo, analítico observacional. Se revisaron 520 fichas de patología mamaria pertenecientes al Hospital Churrua y al Sanatorio Corporación Médica de General San Martín, en el

Gráfico 1. Distribución de Subtipos Moleculares



período comprendido entre enero 2010 y enero 2015. Se excluyeron 83 pacientes: 41 por presentar carcinomas *in situ* (34 CDIS y 17 CLIS), 36 por carecer de datos relevantes y falta de seguimiento, 4 pacientes masculinos y 2 pacientes con diagnóstico de sarcoma. Las 437 pacientes restantes fueron clasificadas en los subtipos moleculares clásicos: 234 pacientes Luminal A (54%) definido como RH+, Ki67<14% y HER2-; 147 Luminal B (34%) definido como RE+, RP<20 y/o Ki6>14% y/o HER2+; 37 Triple Negativos (8%) y 19 HER2 sobreexpresados (4%) en ausencia de RH. (Gráfico 1)

Gráfico 2. Subtipos de Luminal B en función de sobreexpresión del Ki67, RP y/o HER2

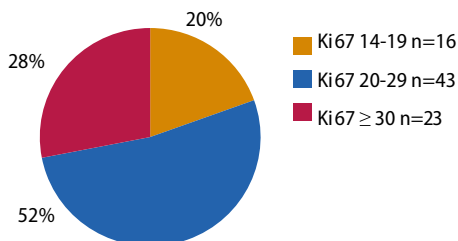


La expresión de los receptores hormonales se consideró positiva con tinción mayor al 1% de los núcleos de células tumorales. Para valorar el Ki67, se utilizó el clon MIB1 y se realizó el recuento de los núcleos tumorales teñidos en 200 células, excluyendo las estromales e inflamatorias. El índice de proliferación se estableció como la media de los valores obtenidos en tres zonas diferentes de la preparación, estableciendo el punto de corte en mayor a 14%, considerándose *elevado* todo valor superior al mencionado.⁷

Como se indicó, el grupo Luminal B, fue clasificado mediante IHQ acorde a RE+, RP<20% y/o Ki67 elevado y/o HER2 sobreexpresado. El índice de Ki67 se estratificó en bajo (14-19%), intermedio (20%-29%) y alto (≥30%).

Se registraron y analizaron las siguientes variables: edad al momento del diagnóstico, tamaño tumoral, estatus axilar, estadio clínico, tipo histológico y recaída.

Gráfico 3. Distribución del Ki67 según rango de valores



RESULTADOS

De las 147 pacientes Luminal B, 82 presentaron Ki67 alto, 35 tuvieron receptor de progesterona <20% y 30 sobreexpresaron HER2 en presencia de receptores hormonales. (Gráfico 2)

Solo fueron valoradas las 82 pacientes que presentaban exclusivamente Ki67 elevado, dado que la población que sobreexpresa HER2 presenta diferente perfil biológico, blanco terapéutico y pronóstico y que nuestro objetivo de estudio fue el valor del Ki67.

Según el valor de expresión del Ki67, de las 82 pacientes con Ki67≥14%, 16 pertenecían al grupo de Ki67 entre 14-19%, 43 al grupo entre 20-29% y 23 al grupo con Ki67≥30%. (Gráfico 3)

Tabla I. Relación del Ki67 y edad al diagnóstico

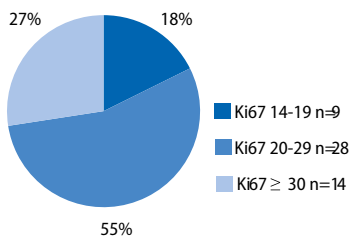
Valor de Ki67 (%)	Edad promedio
14-19	59 (27-89)
20-29	62 (30-92)
≥30	60 (34-93)

Tabla II. Relación entre el valor de Ki67 y el Tamaño Tumoral expresado en mm

Valor de Ki67 (%)	Tamaño Tumoral (mm)
14-19	26
20-29	24
≥30	31

Gráfico 4. Estatus axilar

Estatus Axilar Negativo n=51



Estatus Axilar Positivo n=31

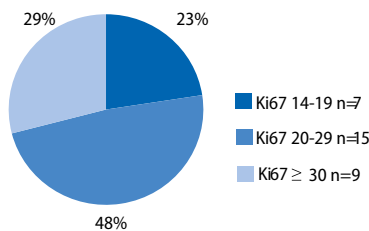
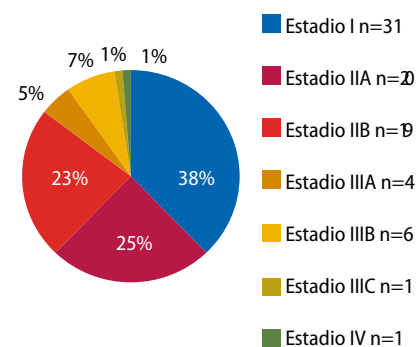


Gráfico 5. Distribución por Estadio Tumoral



La edad promedio de las pacientes estudiadas fue de 59 años, con un rango entre 27 y 93 años. En el grupo con Ki67 14-19%, el promedio de edad fue 58,6 años, en el grupo de 20-29% fue de 62 y en el grupo con Ki67 ≥30 de 60 años. (Tabla I)

La mediana de expresión del Ki67 en nuestra población fue 25,9% (rango 15-80%).

El Ki67 fue asociado parcialmente a mayor tamaño tumoral. En el grupo con Ki67 14-19%, se observó un tamaño medio de 26 mm (rango 10-40 mm); en el grupo con Ki67 20-29%, el promedio de tamaño fue de 24 mm (5-80 mm); y el grupo con Ki67 ≥30% presentó un promedio de 31 mm (10-72 mm). (Tabla II)

En cuanto al estatus ganglionar, de las 82 pacientes: en 51 (62%) fue negativo –de las cuales 9 se ubicaron en el grupo Ki67 14-19%, 28 en el grupo Ki67 20-29% y 14 en el grupo Ki67 ≥ 30%–; y las restantes 31 pacientes (38%) tuvieron adenopatías axilares –7 tenían Ki67 14-19%, 15 presentaban Ki67 entre 20-29% y las 9 restantes tenían Ki67 ≥ 30%. (Gráfico 4)

Predominó el Estadio I con 31 pacientes, seguido del IIA con 20, el IIB con 19, el IIIB con 6 y el IIIA con 4; solo 1 paciente presentó Estadio IIIC y 1 Estadio IV. (Gráfico 5)

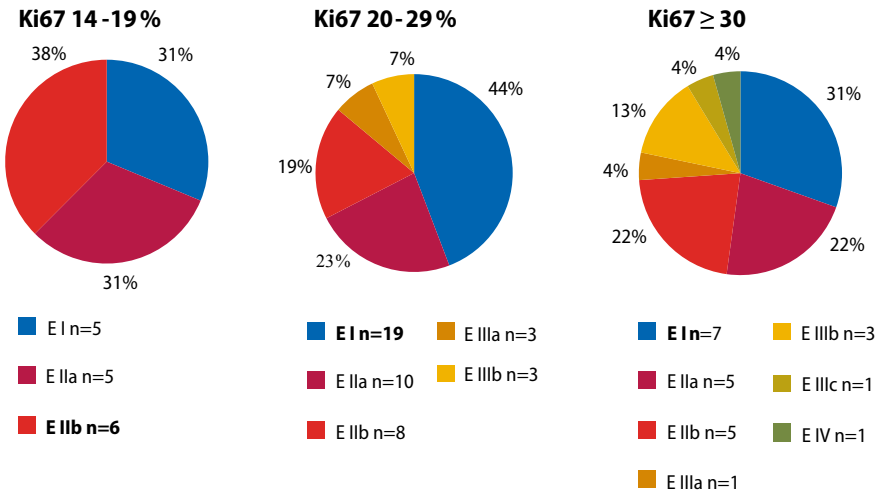
Con respecto a la relación del Ki67 y el estadio tumoral, se constató que en el grupo con Ki67 14-19% predominó el Estadio IIB con 6 pacientes, seguido del I y IIA ambos con 5; en el grupo con Ki67 entre 20-29%, prevaleció el Estadio I con 19 pacientes, seguido del IIA; y en el grupo con

Ki67 ≥ 30% preponderó el Estadio I con 7 pacientes, seguido del IIA y IIB ambos con 5, IIIB con 3, y por último IIIA, IIIC y IV con 1 cada uno. (Gráfico 6)

Con respecto a la histología, de las 82 pacientes, 65 tuvieron estirpe ductal y 13 lobulillar; las restantes presentaron 3 carcinomas de tipo papilar y 1 mucinoso.

Con respecto al grado histológico, 53 pacientes tuvieron Grado II (65%), 15 Grado III (18%) y las restantes 14 Grado I (17%). Al relacionar el mismo con cada uno de los subgrupos preestablecidos, se observó que en el grupo con Ki67 14-19% predominó el Grado II con 8 pacientes, seguido del I con 6 y el III con 2 solamente; en el grupo con Ki67 entre 20-29% preponderó el Grado II con 30 pacientes, seguido del I con 7 y del III con 6; y finalmente,

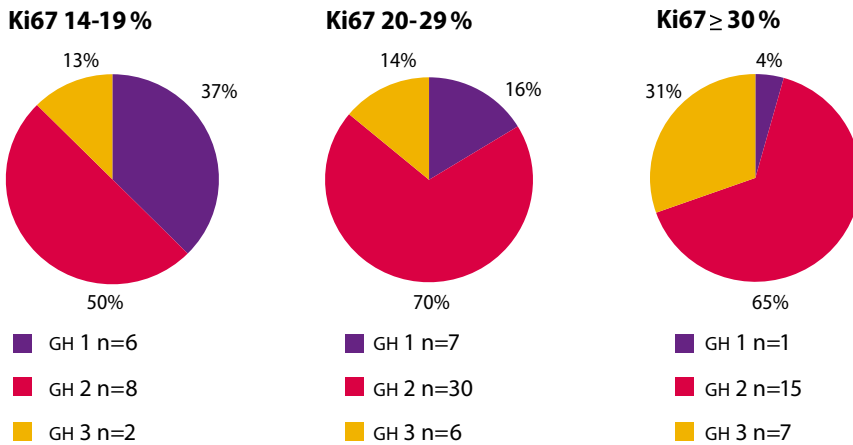
Gráfico 6. Relación del Ki67 y Estadio Tumoral



en el grupo con Ki67 ≥30% prevaleció el Grado II con 15 pacientes, seguido del III con 7 y del Grado I solo 1 paciente. (Gráfico 7)

Durante el seguimiento, registramos 4 casos con progresión (1 recaída local y 3 a distancia), cuya mediana del Ki67 fue 34%. Para estas pacientes, la SLE estuvo entre los 12 y 36 meses. También hubo 2 pacientes fallecidas, una con un Ki67 de 15% y otra de 50%, cuya SG fue respectivamente de 36 y 24 meses. (Tabla III)

Gráfico 7. Relación del Ki67 y Grado Histológico



DISCUSIÓN

La diversidad de los subtipos de cáncer de mama ha llevado a la hipótesis de que, en realidad, son una serie de diferentes enfermedades que surgen a partir de células en diversas etapas de diferenciación.¹⁶

La expresión de receptores hormonales se correlaciona con tumores de bajo grado histológico hormonossensibles. El 77% de las pacientes con tumores RE y RP positivos responde a terapia hormonal; el 46% responde cuando son RE- y RP+; el 27% responde cuando son RE+ y RP-;

el 10% cuando ambos son negativos; y, finalmente, el 11% de las pacientes no responde.³

El 50% de las pacientes con cáncer de mama HER2+ expresa también receptores hormonales y aproximadamente el 10% de los carcinomas con receptores hormonales positivos también sobreexpresa HER2.

Estudios preliminares sugieren que la sobreexpresión del gen HER2 en tumores con receptores hormonales positivos implicaría cierta resistencia a la terapia hormonal, principalmente al tamoxifeno. Dicho mecanismo estaría dado porque la activa-

Tabla III. Eventos durante el seguimiento

	Sitio recaído	Ki67	SLE/ SG
Progresadas	Recaída local	70	12 meses
	MTS pulmonar	25	24 meses
	MTS pulmonar	20	36 meses
	MTS ósea	20	24 meses
Fallecidas	Carcinomatosis meníngea	15	36 meses
	MTS pulmonar	50	24 meses

ción de los receptores HER2 podría amplificar la señal producida por los receptores hormonales, evitando el efecto antiestrogénico.

Con la incorporación de los microarray, se diseñaron perfiles de expresión genética¹⁷ analizando miles de marcadores genéticos simultáneamente. Los mismos se basan en la hibridación de moléculas de ADN complementario (ADNC), preparadas a partir de ARN aislado del tejido tumoral, a secuencias del genoma humano impresas en un soporte sólido. A fin de reconocer qué genes se están expresando en el tumor, el ADNC es marcado con una molécula fluorescente detectada mediante láser.⁶ Su uso ha permitido la subclasificación de tumores histológicamente similares sobre la base de su perfil de expresión y la identificación de perfiles de expresión asociados a un pronóstico determinado.

El primer estudio utilizando esta metodología fue realizado por Perou estudiando los perfiles de expresión genética de las células epiteliales de la glándula mamaria y células neoplásicas. Inicialmente demostró la existencia de al menos cuatro genotipos moleculares: Luminal (caracterizado por la expresión de citoqueratinas 8 y 18), Basal (citoqueratinas 5 y 17), Normal (expresión de genes de células adiposas y otras células de origen no epitelial) y HER2.³ La definición de Luminal surgió debido a que estos tumores muestran ARN mensajero y proteínas de expresión de citoqueratinas 8, 18 y 3 típicamente asociadas con el epitelio luminal, opuestamente a las células basales que expresan queratinas 5 y 6.¹¹ Un quinto subtipo, Claudin-low, fue descubierto más tarde. Otros subtipos son el Apócrino Molecular (RE- con HER2+++ y activación del receptor androgénico) y el Interferón con mayor expresión de genes reguladores de Interferón. Con respecto al Normal like, podría ser un mero artefacto con contaminación de tejido mamario normal.¹¹

En el año 2002, Vant Veer demostró la asociación entre el perfil genético del cáncer de mama y el comportamiento clínico, señalando que existen grupos de pacientes que podrían beneficiarse del tratamiento quimioterápico y no de la hormonoterapia.³ Esta clasificación fue posteriormente modificada por Sorlie en 2003. De acuerdo con los patrones de expresión genética, dividió el cáncer de mama en 2 grandes grupos: neoplasias de bajo grado, que expresan receptores hormonales, y neoplasias de alto grado, con HER2 sobreexpresado.⁶

Cheang, en el año 2009, probó un panel de inmunotinción con cuatro marcadores para establecer el estatus hormonal, el HER2 y el índice de proliferación determinado por la expresión de Ki67, el cual corresponde a un antígeno nuclear presente en todas las células en fase proliferativa del ciclo celular.⁶ Los tumores con receptores hormonales positivos, clasificados como Luminales originalmente, fueron posteriormente subdivididos¹⁸ en subtipo Luminal A (RE o RP+, HER2- con bajo índice prolife-

rativo) y Luminal B (RE o RP+, HER2- con índice de proliferación alto y p53 habitualmente mutada) que representa el 10% de los tumores luminales.³ Otros autores describieron un tercer grupo denominado Luminal/HER2+. Se determinó inicialmente que un punto de corte del Ki67 mayor al 14% podía ser útil para discriminar entre los subtipos Luminal A y B.⁶

Perou realizó un estudio posterior demostrando que los subtipos Luminal B y C tuvieron menor expresión de RE comparados con Luminal A, mientras que Luminal C fue diferenciado de Luminal A y B por mayor expresión de genes compartidos con el Basal Like y HER2. Comparados con el grupo Luminal A, el subgrupo B y C tienen peor pronóstico. Posteriormente, otros estudios intentaron reproducir el subtipo Luminal C, y la clasificación se redujo a dos grupos: Luminal A, con alta expresión de RE y pronóstico favorable, y Luminal B, con menor expresión de RE y peor pronóstico.¹²

Los tumores luminales poseen un patrón inmunofenotípico similar al componente epitelial luminal de la glándula mamaria; expresan citoqueratinas luminales, receptores estrogénicos y menos del 20% tienen mutación de p53.⁶ Estos tumores han sido tratados exitosamente con terapia hormonal antiestrogénica, siendo este el principal target del tratamiento.¹⁴

El subtipo Luminal A es el más frecuente –representa el 67% de los tumores–; posee alta expresión de genes relacionados con receptores hormonales, baja expresión de genes de proliferación celular y expresa citoqueratinas 8 y 18. Contrariamente, el subtipo Luminal B presenta niveles menores de receptores estrogénicos y altos niveles de genes de proliferación. Comparte ciertos patrones con Luminal A y con Basal Like, incluyendo expresión de marcadores de proliferación. El subtipo Luminal B/HER2 se caracteriza, además, por expresar citoqueratinas 9 y 10.⁶

A pesar de expresar receptores estrogénicos, el Luminal B tiene peor pronóstico y mayor riesgo de recaída temprana con hormonoterapia, comparado con el Luminal A.¹⁹

Los tumores Luminal B son genéticamente y genómicamente alterados en mayor extensión que los Luminal A.¹¹ Conforman un grupo muy heterogéneo, que presenta mutaciones, amplificaciones, deleciones, translocaciones, y también características fenotípicas de proliferación.¹⁰

En nuestro trabajo, la edad de presentación del carcinoma mamario invasor en las pacientes con subtipo Luminal B tuvo una mediana de 59 años, similar a la referida en la bibliografía; no hallamos relación estadísticamente significativa entre el grado de expresión tumoral del Ki67 y la edad de las pacientes.⁷

En relación con el tamaño tumoral, se encontró una asociación directamente proporcional entre con la expresión de Ki67, ya que el subgrupo con Ki67 ≥ 30 presentó un promedio tumoral de 31 mm. Esto coincide con las publicaciones, en las cuales la mayoría de los tumores menores a 15 mm presentaron una expresión de Ki67 por debajo del 20%.⁷ Asimismo, Inwald y Fabinsky correlacionaron el Ki67 elevado con mayor tamaño tumoral.²⁰

En nuestro estudio no hemos encontrado una asociación significativa entre los niveles de Ki67 y la afectación ganglionar. Es necesario destacar que, al tratarse de una muestra con mayoría de estadios iniciales, el número de pacientes con ganglios afectados es muy reducido, lo que no permite estudiar esta relación. De todos modos, esto concuerda con numerosas publicaciones en las cuales no se halló relación estadísticamente significativa entre el grado de expresión tumoral del Ki67 y el compromiso axilar.⁷

Con respecto al tipo histológico, el 79% de las pacientes presentó carcinoma de tipo ductal, lo cual concuerda con la bibliografía consultada, siendo este el subtipo más frecuente.⁷

En diversas publicaciones se asoció el grado histológico y el estadio clínico con el índice de Ki67, dando como resultado que niveles altos del mismo se corresponden con mayor grado y estadio.⁵ En nuestro trabajo, predominó el Estadio I (38%) en los tres subgrupos preestablecidos, seguido del IIA con 24%, IIB 23% y solo un 15% de pacientes entre los estadios IIIA, IIIB, IIIC y IV. El grupo con mayor Ki67 fue el único que tuvo pacientes con Estadio IIIc y IV.

En relación con el grado histológico, se encontró una asociación directamente proporcional, ya que, si bien en los tres subgrupos predominó el Grado II (61%), en el grupo con menor expresión del Ki67 hubo un 37% de Grado Histológico I, mientras que en el grupo con Ki67 más alto un 31% tuvo Grado III. Coincidentemente, en los estudios de expresión génica, se observó mayor proporción de Grado Histológico III en el Subtipo B, acorde con los genes de proliferación que son más expresados en tumores Luminal B comparado con el A.¹²

Con respecto al valor pronóstico del antígeno Ki67, no pudimos concluir si a mayor Ki67 hubo menor SG y/o SLE, pero, en las pacientes que durante el seguimiento tuvieron recaída, hallamos una mediana de expresión del Ki67 de 34%, valor superior a la media. De Azambuja estableció que altas expresiones de Ki67 confieren menor supervivencia en etapas tempranas del carcinoma de mama.⁵ Su meta-análisis de 12.155 pacientes mostró mayor riesgo de recurrencia (HR=1,93) y mortalidad (HR=1,95) ante expresión elevada del Ki67, indistintamente de la afectación axilar.²¹ Coincidentemente, Stuart-Harris, con 15.790 pacientes, identificó HR=1,73 para SG y HR=1,84 para SLE frente a la sobreexpresión de Ki67, considerándolo un marcador pronós-

tico independiente de SLE y SG. Cheang también señaló el impacto pronóstico del Ki67 en los tumores con RE+ y HER2-, y Viale consideró que el Ki67 mayor a 19% tiene valor pronóstico pero no predictivo.²⁰

El antígeno Ki67 es un marcador de proliferación celular detectado en 1983 por un grupo de trabajo alemán. Presenta un rol importante en la regulación del ciclo celular: está ausente en células quiescentes en G₀, presenta baja intensidad en G₁/S y tiene niveles máximos durante la mitosis.⁷ Su función exacta es incierta; y es escasa la bibliografía publicada al respecto.²²

El estudio del Ki67 es fácil de realizar, económico y reproducible y se informa como el porcentaje de células marcadas con tinción nuclear con el anticuerpo.³

Presenta elevada discordancia inter e intra-laboratorio e inter-observador.¹⁵ El inadecuado manejo pre-analítico con errores en los tiempos de fijación puede acarrear conclusiones erróneas.²³

En la mama normal se expresa en niveles menores al 3%, y en tumores mamarios está asociado a peor pronóstico y buena respuesta a la quimioterapia,⁷ presentando habitualmente niveles elevados de p53 mutada.³ Si bien aún no es considerado un marcador independiente,⁷ podría ser considerado un biomarcador en la recurrencia de pacientes con cáncer de mama.²² Queda pendiente establecer con precisión el punto de corte; habitualmente, se lo ha dividido en dos o tres categorías: 10%, 14% o 20%.²² En el consenso internacional de expertos de St. Gallen 2015, la mayoría del panel sugirió utilizar el nivel de expresión de Ki67 entre 20-29% para distinguir el Luminal B, mientras que un quinto del panel expresó que no lo utilizaría.²⁴ Previamente, St. Gallen 2011 y 2013 habían recomendado valores de 14 y 20%, respectivamente.²⁵

Por su parte, la European Society For Medical Oncology (ESMO), para definir Luminal B, sugiere el siguiente nivel de corte: Ki67 >20-30% y PR<20%.¹⁵

La expresión del Ki67 se correlaciona con otros marcadores de proliferación, como la fracción de fase S, el índice mitótico y el índice de tirosinkinasa.²¹ A su vez, también existe una relación positiva con la expresión de HER2, si bien no está siempre definida.³

La sobrevida global en pacientes Luminal B subtratadas es similar al subtipo Basal Like y HER2. Tran y Bedard sugieren que el mayor riesgo de recaída asociado al Luminal B está limitado a los primeros 5 años, sin diferencias en la recaída tardía. En una serie de 831 pacientes axila negativa subtratadas, evaluaron el *hazard ratio* para metástasis a distancia de Luminal B, con el siguiente resultado: 2,86 para metástasis tempranas y 0,65 para mayores a 5 años.¹²

A pesar de toda esta evidencia, actualmente no se acepta la expresión de Ki67, como factor determinante a la hora de tomar decisiones.⁷ En nuestro estudio, coincidentemente con la bibliografía, no hemos encontrado una relación significativa entre la expresión de Ki67 y otros factores predictivos y pronósticos clásicos del cáncer de mama.⁷ Petrelli, en su meta-análisis de 64.146 pacientes, confirmó el valor pronóstico del Ki67 en términos de SG y recaída en CM temprano, por lo cual debería ser rutinariamente evaluado por patólogos, aun cuando no exista un valor de corte preciso.¹⁵

Como mencionamos, el punto de corte para determinar un valor alto o bajo es controversial. Si el Ki67 es usado para excluir pacientes de protocolos de quimioterapia por ser tumores poco proliferativos, un punto de corte de 10% sería adecuado, mientras que si el mismo es usado para determinar sensibilidad a quimioterapia es preferible aumentar el punto de corte a 25%.³ Esta falta de un punto de corte preciso continúa siendo una limitante para establecer el Ki67 como un factor pronóstico definitivo; sin embargo, niveles de expresión superiores a 14% parecen ser el punto de corte adecuado.²¹

El NCCN y ASCO no recomiendan el análisis rutinario del Ki67;¹⁵ el International Ki67 Breast Cancer Workig Group tampoco sugiere su uso para toma decisiones, precisamente por esta falta de un punto de corte. Igualmente, aún no está aceptado si la expresión del Ki67 en la biopsia es representativa de todo el tumor.²⁵

Con respecto a nuestro trabajo, debemos insistir en que se trató de un estudio retrospectivo con un limitado número de pacientes incluidos en cada grupo, lo cual puede influir en la significancia del valor pronóstico del Ki67. Dicho valor fue evaluado en una población heterogénea en cuanto al estatus axilar. Idealmente, la capacidad pronóstica independiente de un factor debe ser considerada en población con ganglios negativos que no recibe tratamiento adyuvante.

Por último, en lo que se refiere al tiempo de seguimiento, es importante subrayar que fue inferior a 5 años, lapso insuficiente para evaluar el impacto real sobre la recurrencia y sobrevida, ya que un grupo recae tardíamente, quedando fuera de nuestro seguimiento.

CONCLUSIONES

El carcinoma mamario es una enfermedad con alto impacto en salud pública a nivel mundial, con grandes avances terapéuticos en los últimos años y con un desarrollo creciente de estrategias para pronosticar su evolución con mayor precisión.⁵

La evaluación inmunohistoquímica del tumor nos permite identificar aquellas pacientes que se beneficien de los diferentes tratamientos dis-

ponibles.⁶ Desde el hallazgo de los receptores hormonales y, posteriormente, de la sobreexpresión del HER2, surgieron terapias target que han permitido optimizar el tratamiento del cáncer de mama.⁷

Como hemos visto, el subtipo Luminal B es un grupo muy heterogéneo que presenta diferentes comportamientos.

Diversos trabajos han mostrado resultados similares a los encontrados en el nuestro. Estudios randomizados y meta-análisis señalaron que el Ki67 es un importante biomarcador de proliferación celular, considerado un factor pronóstico independiente en CM, asociado a mayor recurrencia.²³ En cuanto a su valor pronóstico en cáncer de mama temprano, los estudios no recomendaban su determinación rutinaria dado que la mayoría son estudios retrospectivos, con poblaciones heterogéneas y limitado número de pacientes en los cuales se emplearon distintos anticuerpos para detectar el Ki67; además, como vimos, falta un punto de corte preciso para valorar proliferación celular.¹⁹ Sin embargo, otros trabajos han demostrado también la asociación entre la expresión del Ki67, el riesgo de recidiva y la disminución de la SLE, recomendando la determinación del Ki67 en la práctica diaria.⁷ El índice de Ki67 tiene impacto pronóstico en SLE pero limitado en SG, si bien el valor de corte no es adecuado para distinguir pacientes de alto o bajo riesgo.²⁰ Por otra parte, aunque también fue investigado en neoadyuvancia como predictor de respuesta patológica completa con valores superiores a 20%, no está clara su utilidad en adyuvancia.²⁶

Consideramos que el Ki67 evaluado mediante IHQ es potencialmente útil en el manejo clínico del CM; se encuentra más a disposición que los tests genómicos para identificar pacientes de bajo o alto riesgo beneficiados con quimioterapia adyuvante.¹⁵

En el grupo RE+ PR+ HER2-, el valor de corte del Ki67 debería ser reevaluado a fin de evitar pacientes subtratadas como Luminales A con menor respuesta hormonal.¹⁹

La implementación de estas técnicas en el estudio rutinario de los tumores requerirá de un largo proceso de validación, estandarización y disminución de los costos de procesamiento,⁶ ya que consideramos que deben ser analizadas por patólogos expertos, rutinariamente, en pacientes con cáncer de mama temprano.²¹

De acuerdo con los resultados de este estudio, se puede concluir que el índice Ki67 permite establecer subgrupos de mejor o peor pronóstico, sin encontrarse referencias específicas con puntos de corte para Luminales B.⁵

Finalmente, si bien la vía estrogénica es una terapéutica aceptable para estos tumores,¹¹ sigue estando vigente la búsqueda de nuevas estrategias para su tratamiento.¹⁴

REFERENCIAS

1. Sierra García A., Piñero Madrona A., Illana Moreno J. Cirugía de la mama. Guías Clínicas de la Asociación Española de Cirugía. Madrid, 2006, pp. 214.
2. Yin D, Wang YL, Wang YF, Yang L, Zhang L, Tang C, Xie W, Ma Y. Correlation between clinical pathology of Luminal B breast cancer and determination of estrogen receptor, progesterone receptor and her2 expression combined with nuclear morphology.
3. Leroux F. Marcadores Biológicos en Cáncer De Mama. *Revista Argentina de Mastología* 2013; 32 (114): 89-119.
4. Magno Belém Cirqueira BS MSc, Rebouças Moreira MA MD PhD, Ribeiro Soares L MD, Carneiro Cysneiros M-A MD MSc, Tavares Vilela M-H MD MSc and Ruffo Freitas-Junior MD PhD. Effect of Ki-67 on Immunohistochemical Classification of Luminal A to Luminal B Subtypes of Breast Carcinoma.
5. Yang Hung C, López L, Lizardo A, Hernández G, Saldivia F, Fernández A, Silva I, Hardisson D, Reigosa A. Expresión de Ki-67 como Factor Pronóstico en las Clases Moleculares de Carcinoma de Mama. *Rev Venez Oncol* 2012; 24 (2): 107-124.
6. Imigo FG, Mansilla ES, Delama IG, Poblete MTS, Fonfach CZ. Clasificación molecular del cáncer de mama (CHILE). Artículo de Actualización. *Cuad Cir* 2011; 25: 67-74.
7. Panal Cusati M, de la Muela MH, Hardisson Hernaez D, Choqueneira Dionisio M, Román Guindo A y de Santiago FJ. Correlación entre la expresión de Ki67 con factores clásicos pronósticos y predictivos en el cáncer de mama precoz. *Rev Senol Patol Mamar* 2014; 27 (4): 163-169.
8. Ferguson NL, Bell J, Heidel R, Lee S, Vanmeter S, Duncan L, Munsey B, Panella T, Orucevic A. Prognostic value of breast cancer subtypes, Ki-67 proliferation index, age, and pathologic tumor characteristics on breast cancer survival in Caucasian women. *Breast J* 2013 Jan-Feb; 19 (1): 22-30. doi: 10.1111/tbj.12059. Epub 2012 Dec 13.
9. Cancellato G, Maisonneuve P, Rotmensz N, Viale G, Mastropasqua MG, Pruneri G, Montagna E, Iorfida M, Mazza M, Balduzzi A, Veronesi P, Luini A, Intra M, Goldhirsch A, Colleoni M. Progesterone receptor loss identifies Luminal B breast cancer subgroups at higher risk of relapse.
10. Dowsett M. Translational breast cancer research in luminal breast cancer. Academic Department of Biochemistry, Royal Marsden Hospital, London, UK. *Breast Cancer Research* 2011, 13 (Suppl 2): O14 (doi: 10.1186/bcr3013).
11. Chad J Creighton. The Molecular profile of luminal B breast cancer. *Biologics: Targets and Therapy* 2012; 6: 289-297.
12. Tran B and Bedard PI. Luminal-B breast cancer and novel therapeutic targets. *Tran and Bedard Breast Cancer Research* 2011; 13: 221.
13. Zepeda-Castilla EJ, Recinos-Money E, Cuéllar-Hubbe M, Robles-Vidal CD, Maafs-Molina E. Clasificación Molecular del cácer de mama. *Cir Ciruj* 2008; 76: 87-93.
14. Loi S. Molecular heterogeneity of luminal breast cancer. Breast Cancer Translational Research Laboratory JC Heuson, Institute Jules Bordet, Brussels, Belgium. *Breast Cancer Research* 2011, 13 (Suppl 2): O13 (doi: 10.1186/bcr3012).
15. Petrelli F, Viale G, Cabiddu M, Barni S. Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients. *Breast Cancer Res Treat.*
16. Bao L, Cardiff RD, Steinbach P, Messer KS, Ellies LG. Multipotent luminal mammary cancer stem cells model tumor heterogeneity. *Breast Cancer Res* 2015 Oct 14; 17 (1): 137. doi: 10.1186/s13058-015-0615-y.
17. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, Watson M, Davies S, Bernard PS, Parker JS, Perou CM, Ellis MJ, Nielsen TO. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with Luminal B breast cancer.
18. Loi S, Sotiriou C, Haibe-Kains B, Lallemand F, Conus NM, Piccart MJ, Speed TP, McArthur GA. Gene expression profiling identifies activated growth factor signaling in poor prognosis (Luminal-B) estrogen receptor positive breast cancer.
19. Ciruelos E, Castaneda C, Pascual T, Andrés E, Gomez HL, Manso L, Valdivieso N, Ghanem I and Cortes-Funes H. Getting deep in the luminal B breast cancer subtype and its ki67 cut-off value. *Breast Cancer Research* 2011, 13 (Suppl 2): P6 doi:10.1186/bcr3027.
20. Fabinshy T, Enninga I, Malter W, Hamacher S, Markiefka B, Richters L, Krämer S, Mallmann P, Kirn V. A Retrospective Analysis of Ki-67 Index and its Prognostic Significance in Over 800 Primary Breast Cancer Cases. *Anticancer Research* 37: 1957-1964 (2017). doi:10.21873/anticancer.11536.
21. Gerson-Cwilicha R, Alban-de la Torre FL, Villalobos-Prietoc

- A, Lezid Padilla-Rodríguez A y Serrano-Olvera JA. Recurrencia y supervivencia en cáncer de mama temprano en relación a la expresión de Ki-67. *Gaceta Mexicana de Oncología* 2014; 13 (1): 4-11.
22. Stathopoulou GP, Malamos NA, Markopoulou C, Polychronisa A, Armakolas A, Rigatos S, Yannopoulou A, Kaparelou M and Antonioub P. The role of Ki-67 in the proliferation and prognosis of breast cancer molecular classification subtypes. 950 Clinical report.
23. Rumiko Tashima, Reiki Nishimura, Tomofumi Osako, Yasuyuki Nishiyama, Yasuhiro Okumura, Masahiro Nakano, Mamiko Fujisue, Yasuo Toyozumi, Nobuyuki Arima. Evaluation of an Optimal Cut-Off Point for the Ki-67 Index as a Prognostic Factor in Primary Breast Cancer: A Retrospective Study. Published: July 15, 2015; <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0119565>.
24. A. S. Coates, e. P. Winer, a. Goldhirsch, r. D. Gelber, m. Gnant, m. Piccart-gebhart, b. Thürlimann, h.-j. Senn and panel members. 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 advance*. Access published may 4, 2015.
25. Ács B, Zámbo V, Vízkeleti L, Marcell Szász A, Madaras L, Szentmártoni G, Tökés T, Molnár BA, Molnár IA, Vári-Kakas S, Kulka J and Tökés AM. Ki-67 as a controversial predictive and prognostic marker in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Ács et al. Diagnostic Pathology*, 2017, pp. 12:20.
26. Duffy MJ, Harbeck N, Nap M, Molina R, Nicolini A, Senkus E, Cardoso F. Clinical use of biomarkers in breast cancer: Updated guidelines from the European Group on Tumor Markers (EGTM). Received 4 July 2016; received in revised form 12 October 2016; accepted 13 January 2017.

DEBATE

Dr. González: Gracias Ornella, muy lindo el trabajo, muy interesante. ¿Algún comentario, alguna pregunta? Lo mío, más que pregunta, es comentario. Con el esfuerzo de conseguir en nuestro país hacer una casuística en dos instituciones, buscando pacientes con todo el perfil inmunohistoquímico, que no es fácil hacerlo, estás más o menos demostrando la confusión que hay en todo el mundo, porque, en realidad, es una cosa muy heterogénea, no sabemos perfectamente dónde encasillar el Ki o cómo utilizarlo para los factores pronósticos. Ustedes, sobre la base de este trabajo hecho en dos instituciones, ¿llegaron a alguna conclusión o tomaron algún tipo de conducta en relación con el Ki, o lo incluyeron dentro de las indicaciones terapéuticas?

Dra. Sturla: Fue valorado dentro del contexto de cada paciente. Nunca se tomó al Ki aislado para determinar un tratamiento; y, de hecho, de estas pacientes que yo mencioné, de las ochenta y dos, ninguna tuvo alguna plataforma genómica. Pero fue evaluado todo el contexto del

paciente y no solamente el Ki; eso fue lo que se tuvo en cuenta para decir si una paciente hacía quimioterapia u hormonoterapia.

Dr. González: ¿Cuál fue el valor de corte que utilizaron ustedes, el valor de corte habitual?

Dra. Sturla: 14%.

Dr. González: ¿Siempre?

Dra. Sturla: Utilizamos ese, sí. Además, la realidad es que más del 50% de los trabajos que consultamos siguen utilizando ese valor de corte. Diferentes meta-análisis también establecieron después –como hicimos nosotros– otros subgrupos arbitrarios, todos con diferentes valores de corte. Uno de los más importantes es el de Viale, en el que se ve un modesto *hazard ratio* con valor mayor al 25%. Pero todavía no hay ningún consenso al respecto.

Dr. González: Bueno, gracias, Ornella. ¿Alguna pregunta más, otro comentario? Damos por terminada la Sesión. Muchas gracias.