

Recurrencia y supervivencia en cáncer mamario temprano con inmunofenotipo triple-negativo

Raquel Gerson,^{a*} Fernando Alban,^b Alberto Villalobos^c y Alberto Serrano^a

^aDepartamentos de Oncología Médica, ^bMedicina General, ^cHematología, Centro Médico ABC, México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 2 de octubre de 2007

Aceptado: 5 de octubre de 2007

RESUMEN

Antecedentes: El estado ganglionar axilar, la expresión de los receptores hormonales y del HER2 son importantes factores pronóstico en cáncer de mama temprano. El inmunofenotipo triple negativo (HER2 y receptores hormonales negativos) se ha asociado con mayor frecuencia de recurrencia y menor tiempo de supervivencia. El objetivo de esta investigación fue evaluar el comportamiento clínico, recurrencia y supervivencia en mujeres con cáncer de mama temprano-triple negativo y otros inmunofenotipos.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de mujeres en etapas I-II B, mayores de 18 años, en quienes se determinó la expresión de la proteína HER2, receptores de estrógeno y de progesterona a través de inmunohistoquímica. Se identificaron cinco grupos: triple negativo, triple positivo, HER2 negativo y receptores hormonales positivos, HER2 positivo y receptores hormonales negativos, HER2 negativo y un receptor hormonal positivo. En cada caso se analizó la edad, fecha del diagnóstico, etapa clínica, tamaño tumoral, estado ganglionar axilar, receptores de estrógenos, progesterona, HER2, p53, angiogénesis, Ki67, tipo de cirugía realizada, tratamiento adyuvante, tiempo a la recurrencia, número y sitios de la recurrencia, así como el tiempo de sobrevida global.

Resultados: 17 pacientes (15.4%) manifestaron el fenotipo triple negativo; 14 (12.7%), triple positivo; 52 (47.3%) en el grupo 3, 11 (10%) en el 4 y 16 (14.5%) en el grupo 5. El fenotipo triple negativo se asoció con proliferación celular aumentada ($p < 0.000$), menor edad (mediana 43 años), mayor tamaño tumoral (mediana 2.5 cm) y menor proporción de pacientes en etapa I, así como mayor frecuencia de expresión positiva de la proteína p53 (78.5%). Observamos mayor frecuencia de recurrencia y de muerte en el grupo triple negativo y en HER2 positivo con receptores hormonales negativos.

Conclusiones: El cáncer de mama triple negativo se presenta en mujeres jóvenes y se asocia con proliferación celular aumentada, induce mayor incidencia de recurrencia y de mortalidad. El comportamiento biológico del cáncer de mama con fenotipo triple negativo es agresivo y similar al observado en pacientes con HER2 positivo y receptores hormonales negativos.

Palabras clave:

Cáncer de mama, fenotipo triple negativo, estado ganglionar axilar, receptores hormonales

SUMMARY

Background: Axillary lymph node status, hormonal receptors (HR) and HER2 expression are significant prognostic factors for early breast cancer. Triple negative immunophenotype (HER2 and HR negative) is associated with a high frequency of recurrence and lower overall survival. The objective was assess clinical behavior, recurrence and survival of patients with triple negative early breast cancer and patients with other immunophenotypes.

Material and methods: We carried out a retrospective study among women with stages I-II B over 18 years with determination of HR and HER2 expression by immunohistochemical assay. We identified 5 groups: triple negative, triple positive, HER2 negative & HR positive, HER2 positive & HR negative, HER2 negative & HR positive. We recorded age, date of diagnosis, clinical stage, tumor size, axillary lymph node status, ER, PR, HER2, p53, angiogenesis, Ki67, type of surgery, adjuvant treatment, time to recurrence, number and recurrence site and overall survival.

Results: 17 patients (15.4%) had triple negative phenotype, 14 (12.7%) triple positive, 52 (47.3%) were localized in group 3, 11 (10%) in 4 and 16 (14.5%) in group 5. Triple negative phenotype was associated with increased cellular proliferation ($p < 0.000$); being young (median 43 years), large tumor size (median size 2.5 cm) lower proportion of patients in stage I and high frequency of p53 positive (78.5%). We observed a high frequency of recurrence and death among the triple negative group and among the HER2 positive and HR negative cases.

Conclusions: Triple negative breast cancer is more common among young women and is associated with a high frequency of recurrence and mortality. Clinical behavior among triple negative breast cancer cases is aggressive and displays a similar clinical profile that observed among HER2 positive and HR negative patients.

Key words:

Breast cancer, Triple negative breast cancer, axillary lymph node status, hormonal receptor expression

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Alberto Serrano. Torre Médica II, Centro Médico ABC, Sur 136 número 116-2c, Col. Las Américas, México D.F., México. Tels.: 5272 3345, 5272 8430. Correo electrónico: serranoolvera@yahoo.com.mx.

Introducción

Mundialmente, el cáncer de mama es la neoplasia más común entre las mujeres; durante el año 2002 se registró más de un millón de casos nuevos y 410 712 muertes por esta enfermedad. En Estados Unidos de Norteamérica, durante el mismo año se identificaron 209 995 casos nuevos, de los cuales fallecieron casi 43 mil mujeres. En México, la incidencia del cáncer de mama es menor, sin embargo, se informaron 11 064 casos y 4310 muertes.¹

Debido a su detección en etapas más tempranas así como por los avances en la quimioterapia adyuvante, se ha logrado reducir la recurrencia y la mortalidad.^{2,3} La enfermedad micrometastásica es la causa de la recurrencia y sugiere el uso de la terapia adyuvante. El cálculo del riesgo de recurrencia en el cáncer mamario temprano se establece a través del análisis de diversas características de la paciente y del tumor; la edad al diagnóstico, tamaño tumoral, estado de los ganglios axilares, grado de diferenciación y la presencia o ausencia de invasión vascular o linfática, han sido algunos factores pronósticos extensamente validados.^{2,4}

El estado de los receptores hormonales (receptores de estrógenos y de progesterona) y la sobreexpresión de la proteína o la amplificación del oncogén HER2 han mostrado ser de utilidad para establecer el pronóstico y predecir la respuesta a modalidades específicas de tratamiento.^{2,4,5} El informe del estudio NSABP-B06 mostró el valor pronóstico de receptores de estrógeno, ya que en las mujeres con carcinoma mamario tratado con cirugía seguida de radioterapia se observó 74% de supervivencia libre de enfermedad a cinco años y sobrevida global en 92% de aquellas con receptores de estrógeno positivos, mientras que en las mujeres con receptores de estrógeno negativos estos parámetros fueron 66 y 82%, respectivamente.⁶

El protooncogén HER2 se encuentra amplificado en 20 a 30% de las pacientes con cáncer de mama, su presencia se asocia con mayor agresividad tumoral manifestada por mayor incidencia de recurrencia y mayor mortalidad, predominantemente en pacientes con ganglios axilares positivos; además, este oncogén ha mostrado capacidad para predecir la respuesta a distintos esquemas de quimioterapia en enfermedad avanzada o metastásica, convirtiéndose en el foco de investigación como blanco terapéutico para el desarrollo del anticuerpo monoclonal trastuzumab, el cual ha modificado las expectativas de vida en este grupo de pacientes.⁷⁻⁹

Los avances tecnológicos en años recientes han permitido incorporar métodos novedosos para analizar el comportamiento genético del cáncer mamario mediante la determinación de perfiles de expresión génica. Perou y colaboradores¹⁰ describieron la heterogeneidad molecular del cáncer mamario al agrupar cinco subtipos detectados a través de un estudio de arreglos de la expresión de ácido ribonucleico (ARN) —luminal (A y B), HER2, basal, normal—. Actualmente se reconocen tres perfiles genéticos que han modificado la taxonomía del carcinoma mamario: subtipo luminal, HER2 y basal; cada uno de estos perfiles muestra características clínicas y pronóstico diferentes.¹¹⁻¹³ El carcinoma mamario basal se ha caracterizado por la ausencia de receptores

hormonales y de HER2, está representado por genes involucrados en la proliferación y diferenciación celular, vías mediadas por p21 así como vías de señalización del ciclo celular.^{12,14}

Un estudio mexicano en 10 mujeres con cáncer de mama determinó, a través de técnicas de microarreglos de ácido desoxirribonucleico (ADN) clonado e hibridación genómica comparativa, la sobreexpresión de nueve genes relacionados con el ciclo celular, la adhesión celular y el factor de crecimiento fibroblástico; también se observó subexpresión de seis genes asociados con la apoptosis, reparación de ADN y ocho genes apagados involucrados en la apoptosis, reparación de ADN, interacción célula-célula y producción de interleucina-2.¹⁵

El costo y la falta de infraestructura requerida para realizar perfiles de expresión genética permitieron que se utilizara la inmunohistoquímica como un medio para caracterizar los subtipos de cáncer mamario. Nielsen¹⁶ documentó que un panel consistente en RE, HER1, HER2 y citoqueratinas 5/6 era suficiente para identificar cánceres subtipo basal. La ausencia de tinción inmunohistoquímica a los receptores hormonales y la proteína del HER2, o de su amplificación, define al grupo de pacientes con cáncer de mama triple negativo;¹⁷ este fenotipo triple negativo ha sido asociado con peor pronóstico tanto en recurrencia como en supervivencia.¹⁸⁻²⁰

El objetivo de este trabajo es analizar el comportamiento clínico, recurrencia y sobrevida del cáncer mamario en etapa temprana con fenotipo triple negativo, y compararlo con otros inmunofenotipos.

Material y métodos

De enero de 2000 a septiembre de 2006 se atendieron 208 mujeres con cáncer de mama clasificadas en etapa I, IIA o IIB, que fueron tratadas con mastectomía radical modificada o cirugía conservadora, seguida de tratamiento adyuvante con quimio, radio y terapia hormonal o la combinación de ellas. Para los fines de este estudio se incluyeron pacientes mayores de 18 años de edad, con diagnóstico confirmado de cáncer mamario en etapa I, IIA o IIB, en quienes se determinó el estado de receptores de estrógeno y progesterona y la expresión de la proteína HER2 a través de inmunohistoquímica. Se excluyeron los casos donde los datos del tumor primario o del estado de los receptores estrógeno y progesterona y HER2 no fueron disponibles (31), aquellos que continuaban en tratamiento adyuvante mientras se realizó el análisis estadístico (seis), así como los que fueron tratados con quimioterapia primaria (10), diagnóstico de carcinoma *in situ* (14), presentación del cáncer mamario como una segunda neoplasia (10) o asociación con embarazo (uno), histología diferente al carcinoma ductal o lobular (uno), cáncer inflamatorio (uno), etapa clínica superior a IIB al momento del diagnóstico inicial (dos) o seguimiento inferior a seis meses (21).

De acuerdo con el estado de los receptores de estrógeno y progesterona y la expresión de HER2 se definieron cinco inmunofenotipos:

1. *Triple negativo*: tinción positiva de receptores de estrógeno (< 5 fmol/g) y receptores de progesterona < 10 fmol/g de tejido y del HER2, considerada como 0+, 1+ o 2+ en relación con los lineamientos estandarizados internacionales.
2. *Triple positivo*: tinción positiva de receptores de estrógeno y progesterona, tinción 3+ de HER2.
3. *HER2 negativo* y receptores hormonales positivos.
4. *HER2 positivo* y receptores hormonales negativos.
5. *HER2 negativo* y un receptor hormonal positivo.

Se recomienda que los casos HER2 positivo 2+ sean revisados a través de hibridación fluorescente *in situ* (FISH por sus siglas en inglés), sin embargo, esta técnica estuvo disponible en nuestro hospital hasta el año 2005, por lo que los casos considerados como HER2 2+ no fueron reclasificados a través de dicha técnica. Sin embargo, todos los estudios de inmunohistoquímica fueron hechos por el mismo equipo de patólogos utilizando los protocolos estandarizados para cada prueba.

Análisis inmunohistoquímico

Se realizó inmunohistoquímica en los cortes de tejido embebido de parafina obtenidos del tumor primario para identificar los marcadores biológicos. En los bloques de parafina se realizaron cortes de 2 micras que se montaron en un control positivo y otro negativo con incubación a 60 grados por 30 minutos. Posteriormente, se procedió al desparafinado mediante dos lavados de xilol, dos más de alcohol absoluto a 96% y más tarde se rehidrataron con agua destilada. La recuperación de proteínas se llevó a cabo mediante la aplicación de solución de citrato amortiguadora, exposición a altas temperaturas, enfriamiento, lavado, reincubación y reamortiguación. Para obtener el bloque de proteínas se empleó peróxido de hidrógeno, seguido de la exposición a los anticuerpos primarios con receptores de estrógeno y progesterona, HER2, p53, Ki67 y CD31 (Cuadro I). Para conseguir la fijación y amplificación de la respuesta se expusieron a un anticuerpo secundario biotinado seguido de lavado para posteriormente conseguir la formación de complejos con estreptoviridina; el revelado se realizó con diaminobenzidina y aplicación de cromógenos y la de contraste con hematoxilina de Meyer. La técnica fue auxiliada por un aparato de inmunotinción automática, DAKO autostainer, DAKO, California, U.S.

Los criterios de positividad para cada una de las pruebas realizadas fueron:

1. Receptores de estrógeno inmunotinción nuclear >5% de las células tumorales.
2. Receptores de progesterona inmunotinción nuclear >10% de las células tumorales.
3. HER2 tinción membranal, 3+ en intensidad.
4. P53 tinción nuclear positiva.
5. Ki67 tinción nuclear >20% de las células tumorales.
6. CD31 tinción citoplásmica >17 vasos por campo (40x).

Variables en estudio

En cada caso se determinó edad al diagnóstico, fecha del diagnóstico, etapa clínica, tamaño tumoral, estado ganglionar axilar, receptores de estrógeno y progesterona, HER2, P53, Ki67, CD31, tipo de cirugía realizada, tratamiento adyuvante, tiempo a la recurrencia, número y sitios de la recurrencia, y el tiempo de sobrevida global. El tiempo a la recurrencia se consideró como el lapso transcurrido desde la cirugía al momento de la enfermedad recurrente; el tiempo de supervivencia global se consideró como el periodo cursado desde el diagnóstico original y el momento de la muerte, relacionada o no a la neoplasia.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizaron los métodos de la estadística descriptiva con medidas de tendencia central y de dispersión; las variables cualitativas se analizaron con χ^2 o la prueba exacta de Fisher, y las cuantitativas con la *t* de Student o la prueba de Kruskal-Wallis.

Resultados

Fueron incluidas en este análisis 110 pacientes, de acuerdo con la definición de los grupos; 17 (15.4%) manifestaron el fenotipo triple negativo; 14 (12.7%), triple positivo; 52 (47.3%), HER2 negativo y receptores hormonales positivos; 11 (10%), HER2 positivo y receptores hormonales negativos; 16 (14.5%), HER2 negativo y un receptor hormonal positivo. Las características generales de la población se muestran en el cuadro II, donde se observa que las pacientes triple negativo fueron más jóvenes que en otros grupos, con

Cuadro I. Anticuerpos utilizados para el análisis inmunohistoquímico

| | Clona | Dilución | Casa | Localización |
|----------------------------|---------|----------|-------------|---------------------------------|
| Receptores de estrógeno | RBT11 | 1:200 | BioSB | Santa Bárbara, California, U.S |
| Receptores de progesterona | RBT22 | 1:50 | BioSB | Santa Bárbara, California, U.S. |
| Oncoproteína HER2 | HER2-24 | 1:30 | BioSB | Santa Bárbara, California, U.S. |
| Proteína P53 | DO7 | 1:200 | Dako | Carpintería, California, U.S. |
| Ki67 | K3 | 1:100 | Cell Marque | Houston, Texas, U.S. |
| CD31 | JC70A | 1:600 | Dako | Carpintería, California, U.S. |

Cuadro II. Características generales de la población

| | Fenotipo triple negativo | Fenotipo triple positivo | HER2 (-) RH (+) | HER2 (+) RH (-) | HER2 (-) 1 RH (+) | p |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|-------------------|-------|
| Número de pacientes | 17 (15.4%) | 14 (12.7%) | 52 (47.3%) | 11 (10.0%) | 16 (14.5%) | |
| Edad (años) | | | | | | 0.121 |
| Promedio | 45.8 | 53.6 | 54.1 | 52.2 | 54.4 | |
| Mediana | 43 | 49.5 | 55 | 53 | 51 | |
| Rango | 34-64 | 34-82 | 32-76 | 43-73 | 30-83 | |
| Etapa clínica (%) | | | | | | 0.079 |
| I | 29.4 | 42.8 | 40.4 | 9.1 | 31.2 | |
| IIA | 52.9 | 50 | 40.4 | 81.9 | 43.7 | |
| IIB | 17.6 | 7.1 | 19.2 | 9.1 | 25 | |
| Tamaño tumoral (cm) | | | | | | 0.163 |
| Promedio | 2.6 | 2.0 | 2.2 | 3.0 | 2.7 | |
| Mediana | 2.5 | 1.9 | 2.0 | 2.8 | 1.8 | |
| Rango | 0.5-8.0 | 0.5-3.0 | 0.3-5.0 | 1.4-4.7 | 0.8-4.0 | |
| Ganglios axilares | | | | | | 0.005 |
| Negativo | 8.3 | 64.3 | 55.7 | 27.3 | 50 | |
| 1 a 4 + | 5.8 | 28.6 | 23.1 | 36.4 | 31.2 | |
| 5 a 9 + | 5.8 | 0 | 5.8 | 18.2 | 12.5 | |
| > 10 + | 5.8 | 0 | 11.5 | 9.1 | 0 | |
| Ganglio centinela + | 0 | 7.1 | 3.8 | 9.1 | 0 | |
| No conocido | | | | | | |
| Terapia adyuvante | | | | | | |
| Quimioterapia | 100 | 85.7 | 76.9 | 100 | 68.7 | |
| Radioterapia | 41.2 | 35.7 | 55.8 | 45.5 | 37.5 | |
| Hormonal | 11.8 | 85.7 | 90.4 | 27.3 | 75 | |
| Anticuerpos monoclonales | 0 | 7.1 | 0 | 9.1 | 0 | |
| Proliferación Ki67 | | | | | | <0.00 |
| Promedio | 46.4 | 23.2 | 26.7 | 49.5 | 14.3 | |
| Mediana | 47.5 | 20 | 20 | 26.4 | 10 | |
| Rango | 5-90 | 2-50 | 1-75 | 10-85 | 0-50 | |
| Angiogénesis (CD31) | | | | | | 0.29 |
| Promedio | 9.7 | 11 | 12.6 | 14.3 | 11.5 | |
| Mediana | 9 | 9 | 11 | 14.5 | 11 | |
| Rango | 4-19 | 0-18 | 4-25 | 6-24 | 4-21 | |

RH = receptores hormonales

mediana de 43 años; ellas también tuvieron menor proporción de enfermedad mamaria detectada en etapa I y mayor tamaño del tumor, con mediana 2.5 cm, comportamiento similar al grupo HER2 positivo y receptores hormonales negativos; sin embargo, no se observó diferencia estadística, $p > 0.05$. Las pacientes triple negativo tuvieron mayor proporción de ganglios negativos (82%) y mayor proliferación celular, mediana 46.4; no se observó relación con la actividad angiogénica, $p > 0.05$. Se detectó expresión positiva de P53 en 78.5% de aquellas triple negativo y en 80% de aquellas con HER2 positivo y receptores hormonales negativos, sin observarse diferencia entre los grupos, $p > 0.05$.

El tratamiento adyuvante en cada grupo se muestra en el cuadro III, donde se observa que todas las pacientes triple negativo y aquellas con HER2 positivo y receptores hormonales negativos recibieron quimioterapia adyuvante; los esquemas basados en antraciclinas y taxanos fueron usados con menor frecuencia en el grupo triple negativo (41.2%) y en el

triple positivo (33.3%) en relación con los grupos restantes. Además, a pesar del resultado negativo de los receptores hormonales en estos grupos, 11.8 y 27.3% respectivamente, fueron tratadas con hormonoterapia adyuvante.

La mediana del tiempo de seguimiento fue de 43, 50.5, 35, 45 y 34.5 meses para cada grupo, respectivamente. Durante ese tiempo se identificaron 13 pacientes con recurrencia (13.8%) y siete muertes (6.4%); de los casos con recurrencia en 13 fue sistémica y en dos, local. En el grupo triple negativo se detectaron 3/17 pacientes (17.6%) con recurrencia sistémica, 1/14 en el triple positivo (7.1%), 3/52 con HER2 negativo y receptores hormonales positivos (5.8%), 4/11 en el HER2 positivos y receptores hormonales negativos (36.4%) y 2/16 con HER2 negativo y un receptor hormonal positivo (12.5%). La recurrencia sistémica se observó a 6, 11 y 16 meses en el primer grupo; 35 en el segundo; 40, 39 y 30 en el tercero, 30, 20 y 6 meses en el cuarto y 19 y 35 meses en el quinto grupo. El patrón

Cuadro III. Tratamientos aplicados

| | Triple negativo n = 17 | Triple positivo n = 14 | HER2 -, RH+ n = 52 | HER2+, RH - n = 11 | HER2-, 1RH+ n = 16 |
|-----------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Cirugía | | | | | |
| Conservadora | 9 (52.9%) | 4 (28.6%) | 23 (44.3%) | 2 (18.2%) | 7 (43.7%) |
| MR modificada | 8 (47.1%) | 10 (71.4%) | 29 (55.7%) | 9 (81.8) | 9 (56.3%) |
| Quimioterapia | | | | | |
| Sí | 17 (100%) | 12 (85.7%) | 40 (76.9%) | 11 (100%) | 11 (68.8%) |
| FAC o AC | 10 (58.8%) | 7 (58.3%) | 17 (42.5%) | 2 (18.2%) | 3 (27.7%) |
| FAC o AC + taxano | 7 (41.2%) | 4 (33.3%) | 22 (55%) | 8 (72.8%) | 8 (72.3%) |
| CMF | 0 | 1 (8.3%) | 1 (2.5%) | 1 (9.1%) | 0 |
| Radioterapia | | | | | |
| Sí | 7 (41.2%) | 5 (35.7%) | 29 (55.7%) | 5 (45.4%) | 6 (37.5%) |
| Hormonoterapia | | | | | |
| Sí | 2 (11.8%) | 12 (85.7%) | 47 (90.4%) | 3 (27.3%) | 12 (75%) |
| Trastuzumab | | | | | |
| Sí | 0 | 1 (7.1%) | 0 | 1 (9.1%) | 0 |

MR = mastectomía radical

FAC = 5-fluorouracilo, adriamicina, ciclofosfamida

AC = adriamicina, ciclofosfamida

RH = receptores hormonales

anatómico de los casos con recurrencia se muestra en el cuadro IV, donde se observa que la invasión visceral, incluyendo las metástasis cerebrales, se presentó en aquellas triple negativo, HER2 negativo y receptores hormonales positivos y HER2 positivo y receptores hormonales negativos; los dos casos de recurrencia local se observaron en este último grupo, a los tres y 11 meses. Cinco de las 25 pacientes con HER2 positivo presentaron recurrencia local o sistémica, y tres fallecieron.

Durante el estudio se detectaron siete muertes, de ellas tres se observaron en el fenotipo triple negativo (3/17 pacientes=17.6%), una con triple positivo (1/14=7.1%), dos con HER2 positivo/receptores hormonales negativos (2/11=18.2%) y una con HER2 negativo/un receptor hormonal positivo (1/16=6.2%). Las muertes en el fenotipo triple negativo ocurrieron en una mediana de 13 meses, la del triple positivo fue a los 55 meses y a los 25 meses en los otros dos grupos. Dado el tamaño de los grupos no es factible realizar un

Cuadro IV. Sitios de recurrencia y mortalidad

| | Pacientes con recurrencia | Sitio anatómico de la recurrencia por paciente | Tiempo a la recurrencia (meses) | Muerte | Tiempo de SV (meses) |
|------------------------------|------------------------------|---|---------------------------------------|--------|----------------------------|
| Triple negativo | 3 | 1. Cerebro, hígado, pulmón | 6 | Sí | 8 |
| | | 2. Pulmón | 11 | Sí | 16 |
| | | 3. Pulmón | 16 | Sí | 39 |
| Triple positivo | 1 | 1. Hueso | 35 | Sí | 59 |
| HER2 negativo, RH positivo | 3 | 1. Mediastino, hueso | 40 | | 49 |
| | | 2. Hueso, hígado | 39 | | 63 |
| | | 3. Pulmón, cerebro | 30 | | 62 |
| HER2 positivo, RH negativo | 4 | 1. Local, piel, hueso | 6*/35 | | 42 |
| | | 2. Hueso, cerebro, ganglios cervicales | 27 | Sí | 32 |
| | | 3. Local | 18 | | 18 |
| | | 4. Hígado cerebro | 12 | Sí | 31 |
| HER2 negativo, 1 RH positivo | 2 | 1. Ganglios axiliares | 20 | | 51 |
| | | 2. Hueso, pleura | 36 | Sí | 41 |

SV = supervivencia RH = receptores hormonales

* La recurrencia local se presentó a los seis meses y la sistémica a los 35 meses

análisis estadístico mayor, pero con las observaciones realizadas hasta el momento es posible pensar que el fenotipo triple negativo ejerce una influencia negativa en la recurrencia y la supervivencia, comportamiento similar al observado en el grupo HER2 positivo y receptores hormonales negativos (Cuadro IV).

Discusión

Los resultados de nuestro análisis mostraron que el cáncer de mama temprano, inmunofenotipo triple negativo, se asocia con proliferación celular aumentada ($p < 0.000$); además, notamos tendencia a presentarse en edad más temprana, mayor tamaño tumoral y menor proporción de pacientes en etapa I, así como mayor frecuencia de expresión positiva de la proteína P53. También en el presente estudio observamos mayor frecuencia de recurrencia y de muerte entre las mujeres con fenotipo triple negativo y HER positivo/receptores hormonales negativos, en comparación con los otros subgrupos.

Otros estudios han mostrado hallazgos similares a los observados en nuestro análisis. Haffty y colaboradores¹⁸ notaron el fenotipo triple negativo en 24.3% de 482 casos, en su mayoría eran mujeres afroamericanas y en 63% el diagnóstico se estableció antes de los 50 años de edad comparado con 45% de otros fenotipos; además, se detectaron mutaciones deletéreas del BRCA1 en 10 de 99 casos y en siete de 99 sobre el BRCA2. Los autores observaron mayor frecuencia de tumores T2 en el grupo triple negativo, 42 vs. 21%. Rakha y colaboradores¹⁹ determinaron el triple negativo en 16.3% de 1726 casos, con edad promedio 49.9 años, el índice pronóstico de Nottingham promedio fue 4.8, rango 2.3 a 7.6, este fenotipo se asoció a mayor tamaño tumoral, pobre grado de diferenciación, mayor recurrencia, menor supervivencia ($\chi^2=112.6$, $p=0.009$) y un patrón metastásico agresivo con diseminación a la médula espinal, meninges, cerebro, hígado y metástasis pulmonares ($\chi^2=48.5$, $p=0.001$), además, se observó ausencia de la expresión del receptor de andrógenos en 87% de los casos ($\chi^2=47.96$, $p < 0.001$), expresión negativa para E-caderina ($\chi^2=6.4$, $p=0.04$) y positiva a P-caderina ($\chi^2=18.3$, $p < 0.001$) y de P53 ($\chi^2=11.2$, $p=0.004$). Bauer y colaboradores²⁰ mostraron que 6370 (12.5%) de los 51 074 casos estudiados eran triple negativo, con mayor proporción entre las mujeres hispanicas (18.6 vs. 12.8%), $p < 0.001$, y de raza negra no hispanica (10 vs. 4.4%), $p < 0.001$. Los autores también detectaron mayor frecuencia de estadios avanzados, mayor tamaño tumoral (22 vs. 17 mm) y menor grado de diferenciación en los casos triple negativo.

El fenotipo triple negativo ha sido asociado con peor pronóstico tanto en recurrencia como sobrevida. Rakha y colaboradores¹⁹ notaron una asociación con peor pronóstico de sobrevida global e intervalo libre de enfermedad (rango logarítmico=25.4, $p < 0.0001$ y 14.3, $p=0.0002$, respectivamente). Haffty y colaboradores¹⁸ informaron que los casos triple negativo tenían peor índice de metástasis a distancia a cinco años que las mujeres no triple negativo (67 vs. 82%, $p=0.002$)

y de supervivencia relacionada con la neoplasia (índice de riesgo=1.79; IC 95%=1.03 a 3.22, $p=0.047$); el análisis multivariado identificó al fenotipo como predictor de metástasis a distancia (índice de riesgo=2.15; IC 95%=1.31 a 3.53, $p=0.002$). Bauer y colaboradores²⁰ identificaron supervivencia relativa de 77% a cinco años entre las mujeres con triple negativo mientras que en otros fenotipos se estimó en 93%.

La categorización genética del carcinoma mamario comenzó simultáneamente al siglo XXI, Perou y colaboradores¹⁰ fueron los primeros en describir la heterogeneidad molecular del cáncer mamario. Actualmente se reconocen tres perfiles genéticos que han modificado la taxonomía del carcinoma mamario: subtipo luminal, HER2 y similar al basal; cada uno con características clínicas y pronóstico diferentes.²⁰ El subtipo luminal es el más frecuente, tiene alta frecuencia de receptores de estrógenos o genes relacionados a su activación, generalmente se asocia con buen pronóstico. El subtipo HER2 se asocia con ausencia de receptores hormonales, mutación de P53 y peor pronóstico.¹¹ El subtipo similar al basal (*basal-like*), así llamado por recordar a las células basales de otras partes del cuerpo y a las mioepiteliales de la mama normal, registra la ausencia de expresión de receptores de estrógenos y HER2, muestra fuerte expresión de citoqueratinas 5, 6 y 17, así como la expresión de genes relacionados con la proliferación celular; se asocia con mutaciones de P53 y sobreexpresión de EGFR, C-Kit, así como mutaciones de BRCA1 y BRCA2; es más frecuente entre las mujeres afroamericanas jóvenes y se asocia con mal pronóstico.^{11,17,21}

Los términos *basal-like* y triple negativo comúnmente son utilizados como sinónimos, sin embargo, representan a grupos poblacionales y técnicas de diagnóstico diferentes que comparten características clínicas y de pronóstico. No todos los cánceres mamarios triple negativo por métodos inmunohistoquímicos son calificados como *basal-like* cuando se analizan a través de pruebas de microarreglos de ADN clonado. En un estudio¹⁹ se notó que entre los 282 casos considerados como triple negativo por inmunohistoquímica, sólo 55.7% eran *basal-like* cuando se agregó la expresión de las citoqueratinas 5, 6 o 14; en otros reportes, sólo 85% de los tumores triple negativo se categorizaron como *basal-like*.^{22,23}

En nuestra serie, todas las pacientes con fenotipo triple negativo y HER2 positivo/receptores hormonales negativos recibieron quimioterapia adyuvante; sin embargo, los esquemas basados en antraciclina/taxano se aplicaron en 40.9 y 72.4%, respectivamente. El número de pacientes incluidas en este trabajo limitó la posibilidad de evaluar el impacto de la quimioterapia sobre la frecuencia de recurrencia y supervivencia. La activación del oncogén HER2 puede aumentar la sensibilidad a paclitaxel por inhibición del punto de restricción en la transición de G1/S por medio de P27, lo que permite la progresión del ciclo celular a fases G2 y M.²⁴ Baselga y colaboradores²⁵ señalan una asociación entre la sobreexpresión del HER2 y mayor respuesta terapéutica en mujeres con cáncer de mama metastásico tratadas con paclitaxel, pero esta observación no ha sido confirmada en otros análisis.^{26,27} Al momento parece que la quimiorresistencia no es un factor que condicione el mal pronóstico, ya que algunos estudios han

mostrado alta frecuencia de respuestas completas en cáncer mamario *basal-like* tratado con neoadyuvancia a base de antraciclinas y taxanos.^{11,28} Recientemente se ha observado que este fenotipo no influye en la respuesta cuando se emplea el esquema CMF.²⁹ Nuevas estrategias en el manejo sistémico del cáncer mamario triple negativo comienzan a ser propuestas, entre ellas el uso de desimatinib,³⁰ cisplatino³¹ o trasplante de células progenitoras.³²

Nuestro estudio tiene debilidades que deben ser consideradas al momento de interpretar los resultados:

1. Se trata del análisis retrospectivo de una población pequeña.
2. No se realizó una determinación genética de los casos mediante microarreglos de ADN o ARN, para correlacionar y confirmar los casos que pudieran integrarse en los subtipos luminal (HER2 negativo y receptores hormonales positivos), HER2 (HER positivo y receptores hormonales negativos) o basal (triple negativo), lo que podría aumentar el nivel de confianza acerca de nuestras observaciones.
3. Los casos determinados por inmunohistoquímica como HER2 2+ se consideraron negativos y no se revisaron mediante un ensayo de amplificación genética, como lo sugiere el consenso internacional creado por la *American Society of Clinical Oncology* y el *College of American Pathologists*,³³ lo cual podría influir en la proporción de los casos asignados a cada grupo y variar el comportamiento biológico en cada caso.
4. En nuestro estudio, dos pacientes consideradas con HER2 positivo 3+ recibieron terapia adyuvante con el anticuerpo monoclonal trastuzumab. El valor de la terapia adyuvante con trastuzumab ha sido analizada en cinco ensayos clínicos aleatorios (NSABP B-31, HERA, BCIRG-006, FinHer, N9831), en ellos se ha mostrado que las pacientes asignadas al brazo de estudio tienen mejoría de la supervivencia libre de enfermedad, disminución en la presencia de metástasis a distancia, reducción del riesgo de muerte y aumento de la supervivencia global.³⁴⁻³⁶ Nuestro grupo comenzó a utilizar rutinariamente la adyuvancia con trastuzumab cuando fue aprobada la indicación por la *Food and Drug Administration* en el año 2005, por lo que el comportamiento de los grupos con HER positivo pudiera ser diferente.

Finalmente se concluye que el cáncer de mama triple negativo (HER2 y receptores hormonales negativos) determinado por técnicas de inmunohistoquímica se presenta en mujeres jóvenes y se asocia con proliferación celular aumentada; además, este fenotipo parece tener mayor incidencia de recurrencia y de mortalidad. El comportamiento biológico del cáncer de mama con fenotipo triple negativo es muy similar al observado en pacientes con HER2 positivo y receptores hormonales negativos.

Referencias

1. Globocan 2002. International Agency for Research on Cancer. Disponible en <http://www.dep.iarc.fr>
2. Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. *Oncologist* 2004;9:606-616.
3. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of randomized trials. *Lancet* 2005;365:1687-1717.
4. Breast Cancer. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical practice guidelines in oncology V.2. 2007. Disponible en <http://www.nccn.org>
5. Gerson R, Serrano A, Villalobos A, Sánchez-Forgach E, Sánchez-Basurto C, Murillo A, et al. Biomarcadores en el pronóstico y respuesta al tratamiento en el cáncer mamario. *Gac Med Mex* 2002;138:15-24.
6. Fisher B, Redmond C, Brown A, Fisher ER, Wolmark R, Bowman D, et al. Adjuvant chemotherapy with and without tamoxifen in the treatment of primary breast cancer: 5 years results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Trial. *J Clin Oncol* 1986;4:549-471.
7. Gerson R, Serrano A, Dolengevich H, Sánchez-Forgach E, Sánchez-Basurto C, Villalobos A, et al. c-erbB2 oncoprotein expression related to recurrence and survival in breast cancer patients. XXX World Congress of the International College of Surgeons; Kyoto, Japón. 1996.
8. Ross JF, Fletcher JA. The HER-2/neu oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor, and target for therapy. *Oncologist* 1998;3:237-252.
9. Tsuda H. HER-2 (c-erbB-2) test update: present status and problems. *Breast Cancer* 2006;13:236-248.
10. Perou CM, Jeffrey SS, van de Rijn M, Rees CA, Eisen MB, Ross DT, et al. Distinctive gene expression patterns in human mammary epithelial cells and breast cancers. *Nature* 2000;96:9212-9217.
11. Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *J Clin Oncol* 2005;23:7350-7360.
12. Kapp AV, Jeffrey SS, Langerod A, Borresen-Dale AL, Han Wonshik, Noh DY, et al. Discovery and validation of breast cancer subtypes. *BMC Genomics* 2006;7:231-244.
13. Hu Z, Fan C, Oh DS, Marron JS, He X, Qaqish BF, et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC Genomics* 2006;7:96-107.
14. Sorlie T, Wang Y, Chunlin X, Johnsen H, Naume B, Samaha RR, et al. Distinct molecular mechanisms underlying clinically relevant subtypes of breast cancer: gene expression analysis across three different platforms. *BMC Genomics* 2006;7:127-141.
15. Valladares A, García-Hernández N, Salamanca-Gómez F, Curiel-Quezada E, Madrigal-Bujaidar E, Vergara MD, et al. Genetic expression profiles and chromosomal alterations in Mexican women. *Cancer Genetics Cytogenetics* 2006;170:147-151.
16. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004;10:5367-5374.
17. Cleator S, Heller W, Coombes RC. Triple-negative breast cancer: therapeutic options. *Lancet Oncol* 2007;8:235-244.
18. Haffy BG, Yang Q, Reiss M, Kearney T, Higgins SA, Weidhaas J, et al. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:5652-5657.
19. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AHS, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer* 2007;109:25-32.
20. Bauer AR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER) negative, progesterone receptor (PR) negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population based study from the California cancer Registry. *Cancer* 2007;109:1721-1728.
21. Altundag K, Harputluoglu H, Aksoy S, Gullu IH. Potential chemotherapy options in triple negative subtype of breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:1294-1295.
22. Livasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova MS, Olopade OI, Moore DT, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mol Pathol* 2006;19:264-271.
23. Kandel MJ, Stadler Z, Masciari S, Collins L, Schnitt S, Harris L, et al. Prevalence of BRCA-1 mutations in triple negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24(suppl 18):508.
24. Pegram MD, Finn RS, Arzoo K, Beryt M, Pietras RJ, Salmón DJ. The effect of the HER2/neu over-expression on chemotherapeutic drugs sensitivity in human breast and ovarian cancer cells. *Oncogene* 1997;15:537-547.
25. Baselga J, Seidman AD, Rosen PP, Norton L. HER2 over expression and paclitaxel sensitivity in breast cancer: therapeutic implications. *Oncology (Williston Park)* 1997;11:43-48.
26. Colomer R, Montero S, Lluch A, Ojeda B, Barnadas A, Casado A, et al. Circulating HER2 extracellular domain and resistance to chemotherapy in advanced breast cancer. *Clin Cancer Res* 2000;6:2356-2362.
27. Harris LN, Broadwater G, Lin NU, Miron A, Schnitt SJ, Cowan D, et al. Molecular subtypes of breast cancer in relation to paclitaxel response and outcomes in women with metastatic disease: results from CALGB 9342. *Breast Cancer Res* 2006;8:66-77.

28. **Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, et al.** Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005;11:5678-5685.
29. **Falo C, Moreno A, Varela M, Lloveras B, Figueras A, Escobedo A.** HER-2/neu status and response to CMF: retrospective study in a series of operable breast cancer treated with primary CMF chemotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol* 2007;133:423-429.
30. **Finn RS, Dering J, Ginther C, Wilson CA, Glaspy P, Tchekmedyian N, Slamon DJ.** Dasatininb, an orally active small molecule inhibitor of both the *src* and *abl* kinases, selectively inhibits growth of basal-type/"triple-negative" breast cancer cell lines growing in vitro. *Breast Cancer Res Treat* 2007;105:319-326.
31. **Leong CO, Vidnovic N, De Young MP, Sgroi D, Ellisen LW.** The p63/p73 network mediates chemosensitivity to cisplatin in a biologically defined subset of primary breast cancers. *J Clin Invest* 2007;117:1370-1380.
32. **De Giorgi U, Rosti G, Frassinetti L, Kopf B, Giovannini N, Zumaglini F, et al.** High-dose chemotherapy for triple negative breast cancer. *Ann Oncol* 2007;18:202-203.
33. **Wolff AC, Hammond EH, Schwartz JN, Hagerty KL, Alfred C, Cote RJ, et al.** American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guidelines recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:118-145.
34. **Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I, et al.** Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1659-1672.
35. **Romond EW, Pérez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer CE, Davidson NE, et al.** Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1673-1684.
36. **Smith I, Procter M, Gelber RD, Guillaume S, Feyereislova A, Dowsett M, et al.** 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive: a randomized controlled trial. *Lancet* 2007;369:29-36.