

Clasificación molecular del cáncer de mama: relación con las características clínico-patológicas y el grado histológico en mujeres del noroeste de México

José Manuel Ornelas-Aguirre,¹ Laura María de la Asunción Pérez-Michel²

Resumen

Antecedentes: el cáncer de mama es una enfermedad heterogénea, con subtipos moleculares que varían en su etiología. En su diagnóstico, para determinar el grado histológico del tumor, los patólogos establecen un análisis semicuantitativo de las características morfológicas.

Objetivo: analizar el perfil molecular de la expresión inmunohistoquímica en cáncer de mama ajustado por variables clínicas e histopatológicas y su repercusión en la recurrencia y supervivencia de las pacientes libres de enfermedad.

Material y métodos: estudio transversal, analítico, efectuado en 884 mujeres con diagnóstico de cáncer de mama de las que se estudiaron 768 con tumores de tipo histológico de carcinoma ductal infiltrante, en 596 (77.60%) se definieron cinco perfiles de expresión inmunohistoquímica (luminal A, luminal B, mixto, HER2/neu y triple negativo). Se analizó si había diferencias entre ellos en relación con las variables clínicas e histopatológicas que se ajustaron según el grado histológico.

Resultados: de 596 casos, 201 (33.72%) fueron: luminal A, 40 (6.71%) luminal B, 77 (12.91%) mixto, 108 (18.12%) HER2/neu y 170 (28.52%) triple negativo. La edad y estadio mayor a III se asociaron con los subtipos intrínsecos de cáncer de mama ($p=0.04$), así como la persistencia de la enfermedad en triple negativo de manera límítrofe ($p=0.09$). El subtipo luminal B se asoció con mal pronóstico para recurrencia ($LR=5.991$, $p=0.014$) con análisis univariado. El análisis multivariado encontró asociación para mayor riesgo de muerte en subtipos HER2/neu positivo ($LR=7.193$, $p=0.007$) y mixto ($LR=5.191$, $p=0.023$), y la radioterapia se reveló como factor protector ($LR=0.678$, $p=0.001$).

Conclusiones: se demostró que el grado histológico Scarff Bloom-Richardson es un factor pronóstico independiente que correlaciona con biomarcadores para la evolución y seguimiento del carcinoma de mama.

Palabras clave: cáncer de mama, grado histológico, HER2/neu, receptor de estrógeno, receptor de progesterona.

Abstract

Background: Breast cancer is a heterogeneous disease with molecular subtypes that vary in their etiology. In his diagnosis, pathologists performed a semi-quantitative analysis of morphological characteristics to determine the histologic grade of tumor.

Objective: To analyze the immunohistochemistry molecular expression profile in breast cancer adjusted for clinical and histopathological variables and their impact on recurrence and disease-free survival.

Methods: Of 768 women with breast carcinoma, in 596 (77.60%) were defined 5 immunohistochemistry profiles (luminal A, luminal B, mixed, HER2/neu and triple negative). We analyzed whether there were differences between them in relation to clinical and histopathological variables adjusted for histologic grade.

Results: Of 596 cases, 201 (33.72%) were luminal A, 40 (6.71%) luminal B, 77 (12.91%) mixed, 108 (18.12%) HER2/neu and 170 (28.52%) triple negative. The age and stage greater than III were associated with intrinsic subtypes of breast cancer ($p=0.04$), and the persistence of the disease in triple negative so borderline ($p=0.09$). The luminal B subtype was associated with poor prognosis for recurrence ($LR=5.991$, $p=0.014$) with univariate analysis. Multivariate analysis found an association for increased risk of death in HER2/neu positive subtype ($LR=7.193$, $p=0.007$) and mixed ($LR=5.191$, $p=0.023$), and the application of radiotherapy was revealed as a protective factor ($LR=0.678$, $p=0.001$).

Conclusion: This study demonstrates that Scarff-Bloom-Richardson histologic grade is an independent prognostic factor that correlates with biomarkers for the development and monitoring of breast carcinoma.

Key words: Breast cancer, histological grade, HER2/neu, estrogen receptor, progesterone receptor.

¹ División de Investigación, Hospital de Especialidades 2, Unidad Médica de Alta Especialidad, Centro Médico Nacional del Noroeste, Instituto Mexicano del Seguro Social.

² Servicio de Oncología, Hospital de Especialidades del Grupo Médico San José.

Correspondencia

Dr. José Manuel Ornelas Aguirre
Av. de las Misiones 1252
85098 Cajeme, Sonora, México
Tel.: (64) 4120-2655 Fax: (64) 4414-4246
jmoapat@gmail.com

Recibido: 7 de junio 2013

Aceptado: 3 de septiembre 2013

Introducción

La interpretación morfológica de las secciones histológicas forma la base de diagnóstico y pronóstico del cáncer. El sistema de gradación de Scarff-Bloom-Richardson (SBR), propuesto en 1957 para el cáncer de mama o el modificado de Nottingham son los más utilizados en todo el mundo.^{1,2} El concepto de grado histológico fue originalmente propuesto en 1925 por Greenough,³ quien primero propuso cuantificar una combinación de formaciones tubulares (diferenciación celular), pleomorfismo nuclear e hiperchromatismo nuclear (potencial proliferación) para estratificar el grado de ma-

lignidad. Estos sistemas evalúan las características de las células en el tejido mamario resecado por el cirujano, y determinan el grado de agresividad del tumor. Los tumores de menor grado (I-II) son de buen pronóstico y pueden tratarse en forma menos agresiva, con mejor tasa de supervivencia, y lo contrario para neoplasias de grado superior (III).⁴

En la actualidad, en la mayor parte de los servicios quirúrgicos del mundo se incluye el grado histológico de cáncer de mama en el reporte histopatológico convencional.⁵ El valor de los sistemas de SBR y Nottingham ha confirmado su utilidad en diversos estudios.⁶⁻¹⁰ Sin embargo, la mayor parte se han efectuado en población estadounidense, europea y a veces asiática.¹¹⁻¹⁴ En cáncer de mama en mujeres hispanas son pocos los estudios de cohortes amplias publicados con significación del grado tumoral.¹⁵⁻¹⁹ Además, los recientes avances en biología molecular, proteómica y microarreglos han permitido identificar subtipos específicos de cáncer de mama con biología diferente que en América Latina no han sido suficientemente estudiados.¹⁹

El objetivo de este estudio fue: analizar la expresión de cinco perfiles de expresión inmunohistoquímica con variables clínicas, histopatológicas, en el cáncer de mama, ajustadas por grado histológico y su repercusión en la recurrencia y supervivencia libre de enfermedad, en mujeres hispanas con cáncer de mama del norte de México (Sonora, Baja California y Sinaloa).

Material y métodos

Estudio transversal, analítico, efectuado en una población de 884 mujeres con diagnóstico de cáncer de mama. Se estudiaron 768 tumores de tipo histológico de carcinoma ductal infiltrante; se excluyeron los diagnósticos de carcinoma lobulillar infiltrante, carcinoma ductal *in situ* o formas histológicas especiales.

Inmunohistoquímica y su evaluación

En todas las muestras se realizó inmunohistoquímica para receptores de estrógenos, progesterona y receptor del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2/neu). El análisis de inmunohistoquímica se efectuó en tejido tumoral y mamario fijado en formaldehído buferizado al 10% y embebido en parafina. Como controles se utilizaron tejidos previamente comprobados con positividad para los marcadores utilizados.

La inmunohistoquímica se realizó con antirreceptores de estrógeno (Novocastra, clona: ER-6F11, dilución 1: 20, Newcastle, Reino Unido) y antirreceptores de progesterona

(Dako, clona: PgR-636, dilución 1: 50, Glostrup, Dinamarca). En el caso concreto del HER2/neu, la valoración fue semicuantitativa; se categorizó de 0 a +++, y se consideró positivo el caso de +++, y negativo, el de 0 ó +; en los casos de ++ se realizó valoración mediante técnica de hibridación *in situ* (FISH-Fluorescent *in situ* hybridization) con dos sondas de ADN marcadas con fluoresceína para determinar la positividad o negatividad. El resultado final se obtuvo después del cálculo del cociente entre el número de señales de ambas sondas en un mínimo de 20 núcleos de células tumorales. Se consideró positivo cuando el cociente de amplificación tenía un valor superior a 1.8 para HER2/neu.

Definición de subtipos intrínsecos

Los subtipos intrínsecos de los tumores se clasificaron según el resultado de inmunohistoquímica para receptores de estrógeno, de progesterona y HER2/neu.²⁰ El cáncer de mama subtipo luminal A tiene receptores de estrógeno positivos o receptores de progesterona positivos, o ambos y HER2/neu. El subtipo luminal B es un receptor de estrógeno positivo o receptor de progesterona y HER2/neu positivos. El subtipo HER2/neu tiene receptores de estrógeno y de progesterona negativos y HER2/neu positivo. El subtipo mixto se consideró cuando coincidieron receptores de estrógeno y de progesterona positivos y HER2/neu positivo. Por último, se denominó como subtipo triple negativo a la negatividad a cualquiera de los marcadores mencionados (RE, RP, HER2/neu negativos).

Grado histológico

El grado histológico se calificó mediante la clasificación de Scarff-Bloom-Richardson (SBR).¹ Los tumores los clasificaron de manera independiente por dos patólogos experimentados, quienes obtuvieron una concordancia diagnóstica interobservador superior a 90% en el primer ensayo. La gradación Scarff-Bloom-Richardson se basa en la evaluación microscópica de patrones morfológicos y citológicos de las células tumorales, que incluye la formación de túbulos, pleomorfismo nuclear e índice mitótico. La suma de estos parámetros es la que califica a cada tumor de acuerdo con: *grado I* (3-5 puntos, bien diferenciado), *grado II* (6-7 puntos, moderadamente diferenciado) y *grado III* (8-9 puntos, pobremente diferenciado). En todos los casos, excepto para HER2/neu, se consideró como tinción positiva la que superó 10% de las células por cada 10 campos de gran aumento.

Información clínico-epidemiológica

En todos los casos se registraron variables clínicas y relacionadas con el diagnóstico (edad, menopausia, glándula afectada), estadio de la clasificación TNM,²¹ tipo de cirugía realizada (conservadora ó radical), actividad de la enfermedad, recaída o persistencia de la enfermedad y defunción.

Aspectos éticos

El estudio fue aprobado por el Comité Local de Investigación en Salud 2602 del Hospital de Especialidades 2, Unidad Médica de Alta Especialidad del Instituto Mexicano del Seguro Social en el Centro Médico Nacional del Noroeste, con el número de registro: R-2007-2601-43, con el título: Perfil inmunohistoquímico en recaída de pacientes con cáncer de mama en el norte de México.

Este estudio de investigación no recibió apoyo económico de algún organismo en específico de los sectores público o privado. Los autores declaran que no existe conflicto de interés en este trabajo de investigación.

Análisis estadístico

Se compararon las variables entre los tres grupos mediante una prueba de ANOVA para las variables cuantitativas y análisis de tablas de contingencia y prueba de la χ^2 de Pearson para las variables cualitativas. Se utilizó la prueba exacta de Fisher cuando existió un bajo conteo en las variables categóricas y dicotómicas. Para el análisis de supervivencia se utilizó la prueba de Kaplan y Meier (*Log-rank*) y la de Wilcoxon para estimar las diferencias en la supervivencia de los grupos. Para evaluar los factores de riesgo de recurrencia y supervivencia libre de enfermedad se utilizó análisis multivariado mediante regresión de Cox; se consideró estadísticamente significativo un valor de p igual o menor a 0.05.

Resultados

De 2006 a 2012 se integraron a una cohorte de seguimiento en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional del Noroeste del Instituto Mexicano del Seguro Social en la ciudad de Obregón, Sonora, México, 884 mujeres con cáncer de mama invasor primario. De éstas, se descartaron los tumores diferentes a carcinoma ductal infiltrante y los casos sin resultado de receptores hormonales de manera parcial o total. Al final quedaron 768 mujeres. El promedio de edad al momento del diagnóstico fue de 53.07 ± 12.08 años.

De ellas, 585 (76.2%, IC 95%: 73 a 79) se encontraban en *estadio I-II* del cáncer de mama, 13 (1.7%, IC 95%: 1 a 2) en *estadio III* y 27 (3.5%, IC 95%: 2 a 5) en *estadio IV* ($p < 0.0001$). Con respecto al estado hormonal, 374 pacientes (48.7%, IC 95%: 45 a 52) fueron positivas a receptores de estrógeno, 352 (45.8%, IC 95%: 42 a 49) a receptores de progesterona y 230 (29.9%, IC 95%: 26 a 33) expresaron un cáncer de mama HER2/neu positivo. La recurrencia global de nuestra serie fue de 18.4% ($p < 0.0001$). La persistencia de la enfermedad definida como la enfermedad neoplásica posterior al tratamiento adyuvante de primera línea sólo se observó en 5.5% de los casos ($p < 0.0001$). Los datos demográficos de las pacientes con cáncer de mama se encuentran en el Cuadro I.

De acuerdo con el sistema de clasificación para el grado histológico de Scarff-Bloom-Richardson, 71 (9.2%) pacientes eran *grado I* de cáncer de mama, 180 (23.4 %) *grado II* y 517 (67.3 %) *grado III*. El grado histológico del tumor no se asoció con la edad al momento del diagnóstico ($p = 0.280$). En relación con el estadio del tumor, afección de ganglios linfáticos, sobreexpresión a receptores de estrógeno, progesterona y HER2/neu no existieron diferencias estadísticamente significativas. En cambio, en la recurrencia de la enfermedad a un año de la erradicación del tumor se encontró una asociación límitrofe y directamente proporcional al grado histológico ($p = 0.075$). Para el caso de persistencia de la enfermedad y muerte de las pacientes no se encontraron diferencias significativas. La asociación entre parámetros clínico-patológicos y el grado del tumor se describen en el Cuadro II.

De los 768 casos de carcinoma ductal infiltrante estudiados, en 596 (77.60%) fue posible clasificar el subtipo intrínseco del tumor por tinciones de inmunohistoquímica, 201 (33.72%) fueron luminal A, 40 (6.71%) luminal B, 77 (12.91%) mixto, 108 (18.12%) HER2/neu y 170 (28.52%) triple negativo. La edad se asoció con el subtipo intrínseco de cáncer de mama ($p = 0.04$); sin embargo, cuando se dividió a la población en mujeres mayores o menores de 50 años de edad (menopausia) no se encontró asociación con el subtipo histológico ($p = 0.126$). El estadio mayor o menor a III se asoció con el subtipo histológico de manera límitrofe ($p = 0.09$), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el grado histológico Scarff-Bloom-Richardson ($p = 0.229$), mama afectada ($p = 0.228$), tipo de cirugía realizada radical contra conservadora ($p = 0.798$), enfermedad a ganglios linfáticos ($p = 0.301$), aplicación de radio-quimioterapia ($p = 0.144$), actividad ($p = 0.253$), recaída de la enfermedad ($p = 0.270$) o defunción ($p = 0.602$). En cambio, sí se observó una asociación límitrofe para la persistencia de la enfermedad en el subtipo triple negativo, en comparación con los demás subtipos de cáncer de mama ($p = 0.09$). La asociación entre los subtipos intrínsecos y el

Cuadro I. Características clínico-epidemiológicas de la población estudiada

	n = 768	F (%)	(IC 95%)	p
Edad ± DE (53.07 ± 12.08)				
≤ 50	308 (40.1)	(36 a 43)		
> 50	460 (59.9)	(56 a 63)		< 0.0001
Estadio T (%)				
T1	60 (7.8)	(6 a 9)		
T2	285 (37.1)	(33 a 40)		
T3	58 (7.6)	(5 a 9)		< 0.0001
T4	85 (11.1)	(9 a 13)		
Tx	137 (17.8)	(15 a 20)		
No conocido	143 (18.6)			
Metástasis a ganglios linfáticos				
Positivo	284 (37.0)	(33 a 40)		
Negativo	205 (26.7)	(23 a 29)		< 0.0001
No conocido	279 (36.3)			
Estadio (%)				
I-II	585 (76.2)	(73 a 79)		
III	13 (1.7)	(0 a 2)		< 0.0001
IV	27 (3.5)	(2 a 5)		
No conocido	143 (18.6)			
HER2/neu (%)				
Positivo	230 (29.9)	(26 a 33)		
Negativo	456 (59.4)	(55 a 62)		< 0.0001
No conocido	82 (10.7)			
Estrógeno (%)				
Positivo	374 (48.7)	(45 a 52)		
Negativo	351 (45.7)	(42 a 49)		< 0.0001
No conocido	43 (5.6)			
Progesterona (%)				
Positivo	352 (45.8)	(42 a 49)		
Negativo	374 (48.7)	(45 a 52)		< 0.0001
No conocido	42 (5.5)			
Quimioterapia				
Si	617 (80.3)	(77 a 83)		
No	140 (18.2)	(15 a 21)		< 0.0001
No conocido	11 (1.5)			
Radioterapia				
Si	561 (73.0)	(69 a 76)		
No	35 (4.6)	(3 a 6)		< 0.0001
No conocido	172 (22.4)			
Recurrencia (%)				
Si	141 (18.4)	(15 a 21)		
No	605 (78.8)	(75 a 81)		< 0.0001
No conocido	22 (2.8)			
Persistencia (%)				
Si	42 (5.5)	(4 a 7)		
No	689 (89.7)	(87 a 91)		< 0.0001
No conocido	37 (4.8)			
Defunción (%)				
Si	30 (3.9)	(2 a 5)		
No	685 (89.2)	(86 a 91)		< 0.0001
No conocido	53 (6.9)			
Seguimiento				
Años (DE)	3.4	± 2.8		< 0.0001
Meses (DE)	40.9	± 34.2		< 0.0001

F: frecuencia, IC95%: intervalo de confianza al 95%, DE: desviación estándar

p: calculado con χ^2 de Pearson vs prueba exacta de Fisher.

grado histológico Scarff-Bloom-Richardson se encuentran en el Cuadro III y la Figura 1.

En el análisis univariado mediante tablas de supervivencia (*Log-Rank test*) y multivariado mediante regresión de Cox para la incidencia de recurrencia acumulada a cinco años de seguimiento y ajustado para el grado de diferenciación Scarff-Bloom-Richardson se obtuvo menor frecuencia de recurrencia de la enfermedad en *grados I y II* para la edad menor a 50 años ($LR= 0.006, p= 0.939$), afección a ganglios linfáticos ($LR= 0.051, p= 0.821$), positividad a receptores de estrógenos ($LR= 0.083, p= 0.774$) y progesterona ($LR= 0.332, p= 0.564$) pero no para HER2/neu ($LR= 0.076, p= 0.782$). Para el caso de los subtipos histológicos intrínsecos de cáncer de mama se observó una recurrencia menor en luminal A ($LR= 0.727, p= 0.394$), mixto ($LR= 0.074, p= 0.786$) y HER2/neu ($LR= 0.305, p= 0.581$), sin evidencia de asociación pronóstica con el grado histológico SBR, a diferencia del subtipo luminal B que se relacionó con mal pronóstico para recurrencia de la enfermedad ($LR= 5.991, p= 0.014$). Por último, la administración oportuna de quimioterapia ($LR= 1.100, p= 0.294$), radioterapia ($LR= 0.039, p= 0.844$) o tipo de cirugía ($LR= 1.124, p= 0.289$) disminuyeron los niveles de recurrencia de la enfermedad, sin una asociación estadísticamente significativa para el pronóstico de la enfermedad. El análisis multivariado de factores pronóstico no arrojó asociación para recurrencia en ninguna de las variables estudiadas en comparación con el grado histológico SBR. En el Cuadro IV y las Figuras 2 y 3 se describen algunos factores pronóstico a cinco años de seguimiento para la recurrencia libre de enfermedad y supervivencia acumulada que se ajustó por el grado de diferenciación histológica Scarff-Bloom-Richardson.

Para el caso de las defunciones ocurridas y el grado de recurrencia ajustados por el grado histológico Scarff-Bloom-Richardson, el análisis de Kaplan-Meier no reveló diferencias estadísticamente significativas para afección a ganglios linfáticos, estadio clínico, grado histológico SBR y subtipo molecular. En cambio, un análisis univariado con tablas de supervivencia (*Log-Rank test*) se asoció con mejor supervivencia en las mujeres con un tumor de grado histológico II según la clasificación SBR, así como una relación directa con mayor incremento en la mortalidad en pacientes con tumores positivos para HER2/neu ($LR= 7.193, p= 0.007$) o subtipo histológico mixto ($LR= 5.191, p= 0.023$), o ambos. El análisis multivariado con regresión de Cox confirmó lo anterior y sugirió que la aplicación de radioterapia es un factor protector para mortalidad en estas mujeres ($LR= 0.678, p= 0.001$).

En el Cuadro V se describen los factores pronóstico para defunción a cinco años de seguimiento del diagnóstico y ajustado por grado de diferenciación histológica SBR.

Cuadro II. Parámetros clínico-patológicos de las mujeres estudiadas
ajustados para grado histológico

	Grado histológico SBR*			<i>p</i> <0.0001
	I 71 (9.2)	II 180 (23.4)	III 517 (67.3)	
Edad ± DE				
≤ 50	30 (3.9)	62 (8.1)	216 (28.1)	
> 50	41 (5.3)	118 (15.4)	301 (39.2)	0.280
Estadio T (n, %)				
T1	7 (1.0)	6 (0.8)	47 (6.2)	
T2	31 (4.0)	37 (4.8)	217 (28.2)	
T3	5 (0.6)	6 (0.8)	47 (6.2)	0.637
T4	7 (1.0)	8 (1.0)	70 (9.1)	
Tx	13 (1.6)	11 (1.5)	113 (14.7)	
No conocido	8 (1.0)	112 (14.5)	23 (2.9)	
Metástasis a ganglios (n, %)				
Positivo	39 (5.1)	31 (4.0)	214 (27.9)	
Negativo	24 (3.1)	31 (4.0)	150 (19.5)	0.348
No conocido	8 (1.0)	118 (15.4)	153 (19.9)	
Estadio (n, %)				
I-II	58 (7.6)	63 (8.1)	464 (60.4)	
III	1 (0.1)	3 (0.4)	9 (1.2)	0.807
IV	4 (0.5)	2 (0.3)	21 (2.7)	
No conocido	8 (1.0)	112 (14.6)	23 (2.99)	
HER2/neu (n, %)				
Positivo	23 (3.0)	43 (5.5)	164 (21.3)	
Negativo	44 (5.7)	108 (14.1)	304 (39.6)	0.328
No conocido	4 (0.5)	29 (3.8)	49 (6.4)	
Estrógeno (n, %)				
Positivo	34 (4.4)	80 (10.4)	260 (33.9)	
Negativo	34 (4.4)	86 (11.2)	231 (30.0)	0.549
No conocido	3 (0.4)	14 (1.8)	26 (3.4)	
Progesterona (n, %)				
Positivo	36 (4.7)	79 (10.3)	237 (31.0)	
Negativo	33 (4.3)	87 (11.3)	254 (33.0)	0.803
No conocido	2 (0.2)	14 (1.8)	26 (3.3)	
Recurrencia (n, %)				
Si	15 (2.0)	23 (3.1)	103 (13.5)	
No	54 (7.0)	153 (19.8)	398 (51.8)	0.075
No conocido	2 (0.2)	4 (0.5)	16 (2.0)	
Persistencia (n, %)				
Si	6 (0.8)	7 (0.9)	29 (3.8)	
No	60 (7.8)	165 (21.5)	464 (60.4)	0.321
No conocido	5 (0.6)	8 (1.0)	24 (3.1)	
Defunción (n, %)				
Si	5 (0.6)	4 (0.5)	21 (2.7)	
No	60 (7.8)	163 (21.2)	462 (60.1)	0.188
No conocido	6 (0.8)	13 (1.7)	34 (4.5)	

*SBR: Scarff-Bloom-Richardson

F: frecuencia, IC95%: intervalo de confianza al 95%, DE: desviación estándar

p: calculado con χ^2 de Pearson vs prueba exacta de Fisher.

Cuadro III. Correlación entre subtipo intrínseco y grado histológico

	Luminal A n= 201 (33.72%)	Luminal B n= 40 (6.71%)	Mixto n= 77 (12.91%)	HER2/neu n= 108 (18.12%)	Triple negativo n= 170 (28.52%)	p
Edad (D.E.)	54.6 ± 11.5	53.9 ± 13.5	50.6 ± 11.8	51.45 ± 10.7	51.92 ± 12.8	0.04*
Edad (n, %)						
≥ 50	131 (65.2)	26 (65)	38 (49.4)	62 (57.4)	95 (55.9)	
≤ 50	70 (34.8)	14 (35)	39 (50.6)	46 (42.6)	75 (44.1)	0.126
Estadio (n, %)						
< III	153 (76.1)	34 (85)	64 (83.1)	88 (81.5)	131 (77.1)	
> III	12 (6.0)	3 (7.5)	--	7 (6.5)	7 (4.2)	0.09
Grado SBR* (n, %)						
I	16 (8.0)	2 (5.0)	11 (14.3)	8 (7.4)	20 (11.8)	
II	46 (22.9)	5 (12.5)	9 (11.7)	23 (21.3)	40 (23.5)	0.229
III	139 (69.2)	33 (82.5)	57 (74.0)	77 (71.3)	110 (64.7)	
Mama afectada (n, %)						
Izquierda	89 (44.3)	18 (45)	46 (59.7)	55 (50.9)	68 (40.0)	
Derecha	75 (37.3)	16 (40)	23 (29.9)	41 (38.0)	69 (40.6)	0.228
Tipo de cirugía (n, %)						
Radical	66 (32.8)	14 (35)	31 (40.3)	34 (31.5)	51 (30)	
Conservadora	83 (41.3)	22 (55)	34 (44.2)	53 (49.1)	75 (44.1)	0.798
Ganglios + (n, %)	64 (31.8)	16 (40)	34 (44.2)	40 (37.0)	72 (42.4)	0.301
Radioterapia (n, %)	150 (74.6)	28 (70)	59 (76.6)	86 (79.6)	136 (80.0)	0.144
Actividad (n, %)	42 (20.9)	9 (22.5)	17 (22.1)	30 (27.8)	47 (27.6)	0.253
Recurrencia (n, %)	36 (17.9)	6 (15)	11 (14.3)	20 (18.5)	43 (25.3)	0.270
Persistencia (n, %)	6 (3.0)	1 (2.5)	2 (2.6)	10 (9.3)	11 (6.5)	0.09
Defunción (n, %)	5 (2.5)	1 (2.5)	4 (5.2)	6 (5.6)	8 (4.7)	0.602

*SBR: Scarff-Bloom-Richardson

F: frecuencia, IC95%: intervalo de confianza al 95%, DE: desviación estándar

p: χ^2 de Pearson vs prueba exacta de Fisher.

p: ANOVA.

Discusión

Se reportaron los resultados de una cohorte de 768 casos consecutivos de mujeres con cáncer primario de mama, representativas de las mujeres del noroeste de México (Sonora, Baja California y Sinaloa). Todas las pacientes se trataron de acuerdo con los protocolos convencionales del Instituto Mexicano del Seguro Social con un promedio de seguimiento de 3.4 ± 2.8 años (límites: 0.6 y 6.2). Este estudio se enfocó a la asociación entre características clínico-patológicas y el grado histológico SBR. Se encontró que las neoplasias de alto grado (III) se asociaron con mujeres

mayores de 50 años de edad, tumores mayores de 2.0 centímetros de diámetro, afección a ganglios linfáticos, mayor sobreexpresión para receptores de estrógeno, receptores de progesterona y HER2/neu, y mayor número de recaídas y defunciones.

En comparación con reportes previos (*Grado I:* 18-27%, *Grado II:* 36-38%, *Grado III:* 37-47)^{8,10,22} el grado histológico III tuvo la mayor prevalencia en nuestra serie (67.3%); en cambio, fueron menos frecuentes el grado I (9.2%) y II (23.4). La diferencia entre lo reportado por otras series y nuestro estudio puede deberse a diferencias étnicas y raciales, el estadio de la enfermedad al diagnóstico y los efectos

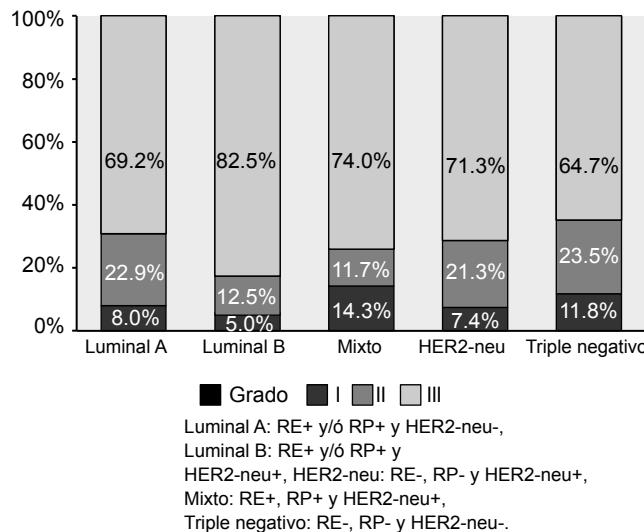


Figura 1. Expresión de subtipos intrínsecos específicos de cáncer de mama según el grado histológico de Scarff-Bloom-Richardson.

de la variación inter-observador al aplicar el sistema Scarff-Bloom-Richardson.²³⁻²⁶

Los esteroides ováricos son necesarios para el buen desarrollo de la glándula mamaria.²⁷ El estrógeno es un importante mitógeno que ejerce su actividad mediante la unión a su receptor que se encuentra en 50-80% de las mamas con cáncer.²⁸ La existencia de receptores hormonales en el tejido tumoral se correlaciona con la respuesta a la terapia hormonal y quimioterapia.²⁹ En el Cuadro I puede observarse que 48.7% de los tumores fueron positivos a receptores de estrógeno; cuando se estratificó por grado de diferenciación se observó que la mayor parte eran *grado III* (33.9%). De la misma forma, en una proporción similar (30.0%) también se encontraron tumores con receptores de estrógeno negativos. Éstos se asocian con un grado histológico mayor y un rango de respuesta menor a la quimioterapia.³⁰ Nuestra serie tiene una baja persistencia de la enfermedad (5.5%) que bien puede explicarse por la buena respuesta hormonal a la terapia administrada.^{27,31}

Cuadro IV. Factores pronósticos para recurrencia libre de enfermedad ajustado por grado histológico

	Grado histológico SBR*			Modelo Univariante		Modelo multivariante		
	I n= 71	II n=180	III n=517	S	LR	P	Exp (B)	p
				S				
Edad (>50, ≤ 50 años)	67%	67%	41%	0.006	0.939	1.031	0.858	
Ganglios linfáticos (±)	60%	100%	47%	0.051	0.821	0.928	0.751	
Metástasis (sí, no)	100%	20%	50%	5.237	0.022	1.324	0.234	
HER2/neu (±)	20%	100%	75%	0.076	0.782	0.994	0.974	
Receptores de estrógeno (±)	67%	10%	36%	0.083	0.774	1.014	0.936	
Receptores de progesterona (±)	67%	11%	36%	0.332	0.564	0.970	0.865	
Luminal A	50%	86%	14%	0.727	0.394	1.159	0.455	
Luminal B	100%	75%	60%	5.991	0.014	0.541	0.146	
Mixto	50%	100%	50%	0.074	0.786	1.010	0.975	
HER2/neu	100%	100%	75%	0.305	0.581	1.028	0.910	
Triple negativo	50%	67%	57%	0.254	0.615	1.068	0.727	
Quimioterapia (sí, no)	60%	75%	47%	1.100	0.294	0.729	0.482	
Radioterapia (sí, no)	50%	75%	47%	0.039	0.844	0.875	0.795	
Cirugía (radical, conser.)	50%	20%	38%	1.124	0.289	0.809	0.285	

*SBR: Scarff-Bloom-Richardson

S= porcentaje de individuos que no han recaído después de cinco años de seguimiento.

LR= Long Rank test (Mantel-Cox), Exp(B)= Hazard Ratio, p= valor de p

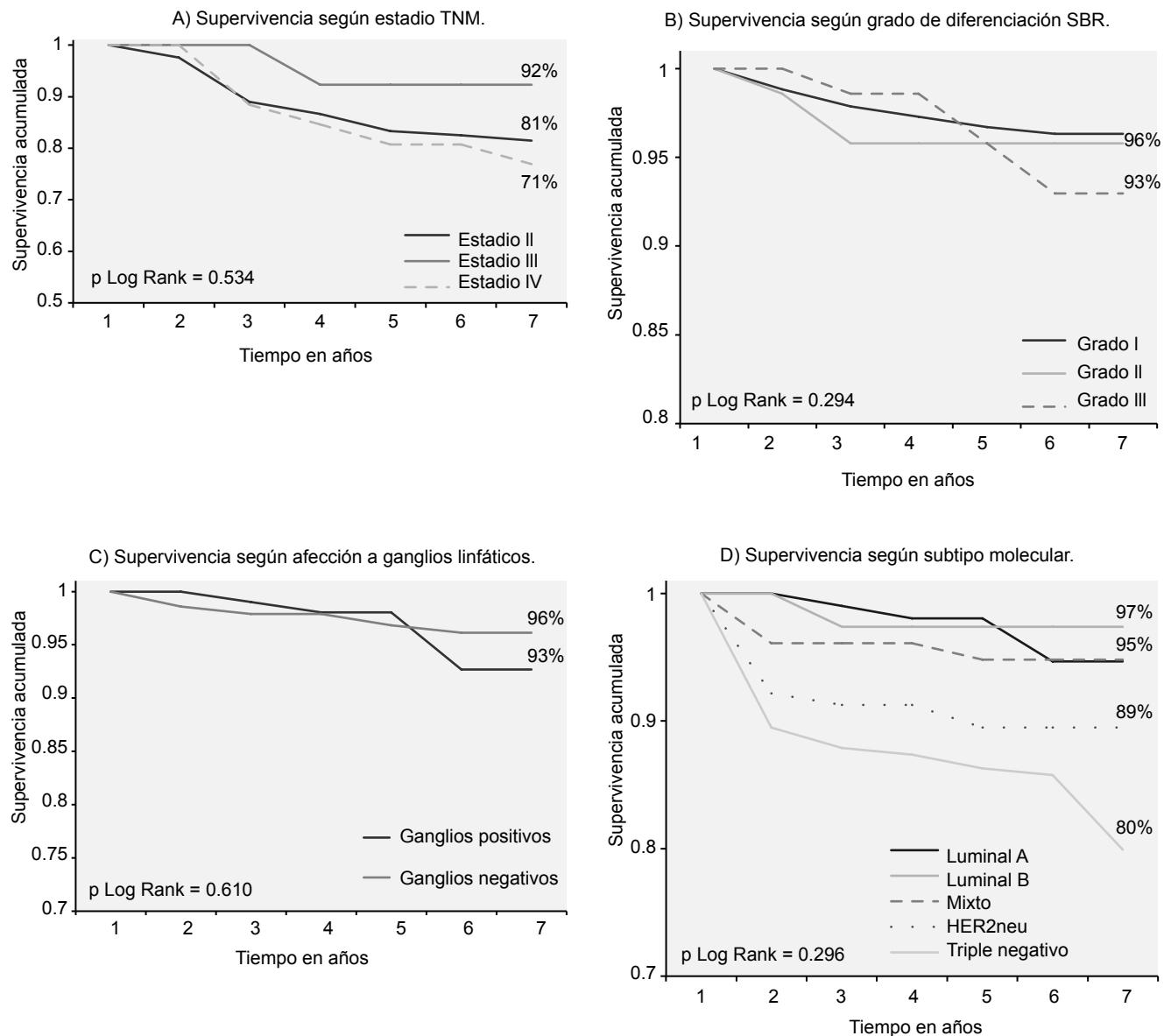


Figura 2. Supervivencia acumulada a cinco años de seguimiento en mujeres con cáncer de mama del noroeste de México.

El receptor de progesterona es un marcador indirecto del funcionamiento de los receptores de estrógeno y es valioso para predecir el comportamiento del carcinoma de mama. Se expresan aproximadamente en 60 a 70% de los carcinomas invasores de mama, sobre todo en mujeres postmenopáusicas.³² En nuestra serie sólo 29% de las mujeres postmenopáusicas tuvieron sobreexpresión para este marcador. La pérdida de receptores de progesterona por las células tumorales se asocia con peor pronóstico, sobre todo en tumores grandes, morfología pobremente diferenciada, incremento

del número de metástasis a ganglios linfáticos axilares y mayor estadio del tumor, principalmente cuando se relaciona con receptores de estrógeno negativos.³² En nuestra serie se observaron proporciones similares de positividad a receptores de progesterona y estrógeno que al ajustar por grado histológico no mostraron cambios significativos en la recurrencia o persistencia de la enfermedad. Una explicación a este hecho pudiera ser una respuesta clínica homogénea al esquema de tratamiento hormonal estándar aplicado por los médicos oncólogos de nuestra institución.

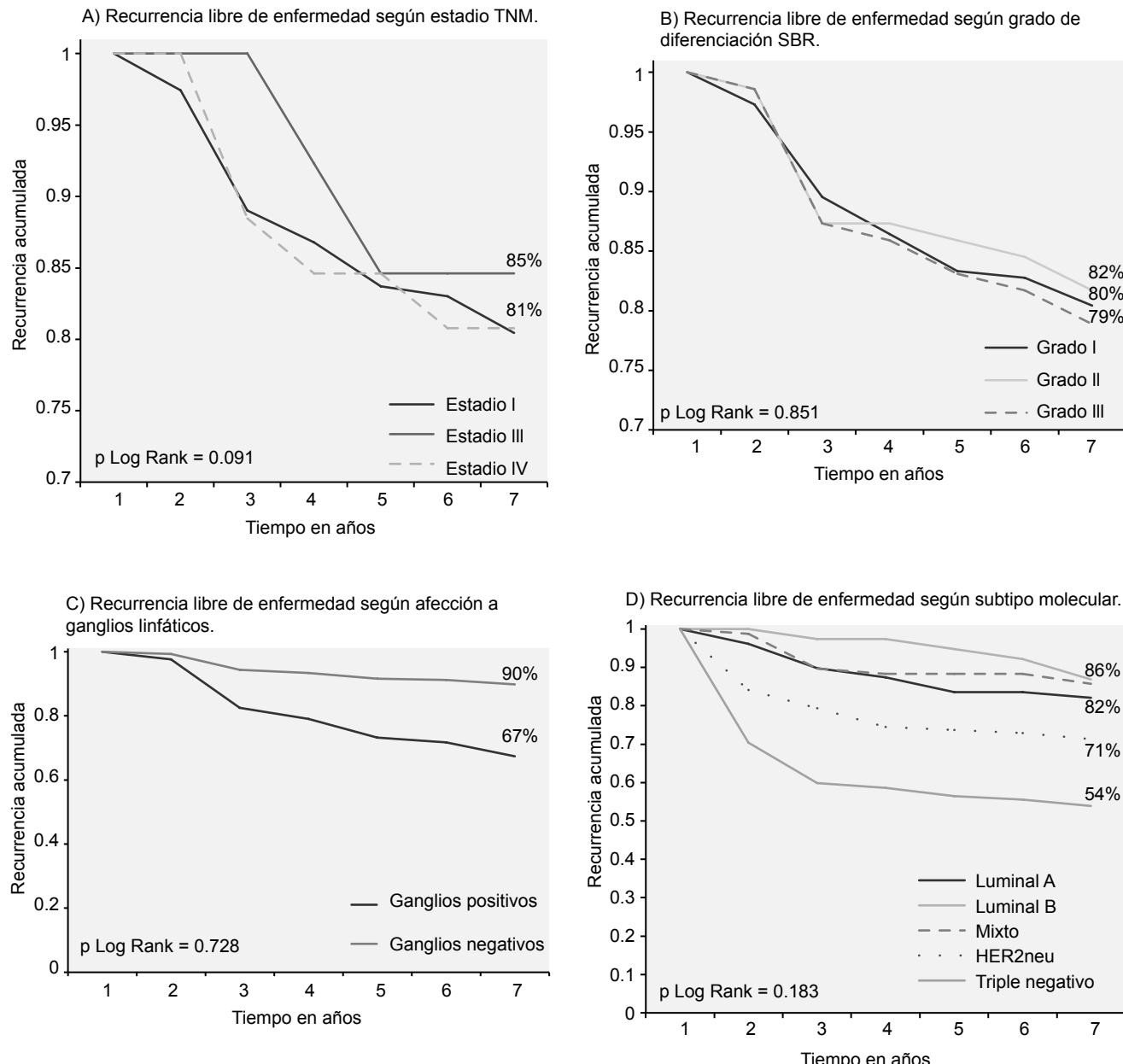


Figura 3. Recurrencia libre de enfermedad a cinco años de seguimiento en mujeres con cáncer de mama del noroeste de México.

HER2/neu, también conocido como C-erbB2, es un proto-oncogen localizado en el cromosoma 17. Es amplificado y se sobreexpresa como proteína HER2/neu entre 15 a 25% de carcinomas invasores de mama y se asocia con mal pronóstico.³³ Nosotros encontramos una sobreexpresión de HER2/neu de 29.9% y más asociado con el grado histológico III (21.3%) en comparación con los grados I-II (8.5%) con recurrencia de 18.5% en estas mujeres, similar a lo reportado por hallazgos de Lovekin y colaboradores.³⁴

La sobreexpresión de esta proteína es un buen predictor de respuesta al tratamiento con trastuzumab (Herceptin®).²⁷ Cuando se analizó la recurrencia asociada con la ausencia de afección en los ganglios linfáticos y sobreexpresión del HER2/neu se encontró una recurrencia de 6.4% (RM= 1.48, IC 95%: 1.08 a 2.04), a este respecto Suo y colaboradores,³⁵ en 2002, reportaron que la proteína HER2/neu es un predictor negativo de respuesta independiente a la quimioterapia y supervivencia global. Mas aún, la expresión de esta proteí-

Cuadro V. Factores pronósticos para supervivencia ajustado por grado histológico

	Grado histológico SBR*			Modelo univariante LR	P	Modelo multivariante Exp(B)	p
	I n= 71 S	II n= 180 S	III n= 517 S				
Edad (>50, ≤ 50 años)	33%	100%	50%	0.183	0.668	1.150	0.733
Ganglios linfáticos (±)	33%	100%	67%	1.000	0.317	0.951	0.941
Metástasis (si, no)	50%	100%	50%	0.556	0.456	1.326	0.538
HER2/neu	100%	100%	50%	7.193	0.007	2.683	0.032
Receptores de estrógenos (±)	50%	100%	33%	0.048	0.827	1.076	0.859
Receptores de progesterona (±)	50%	100%	25%	0.317	0.574	0.822	0.649
Luminal A	--	100%	25%	1.585	0.208	0.613	0.382
Luminal B	100%	--	--	2.222	0.136	1137.51	0.678
Mixto	100%	--	100%	5.191	0.023	3.777	0.050
Triple negativo	33%	100%	67%	0.753	0.386	0.729	0.484
Quimioterapia (si, no)	50%	50%	50%	1.548	0.213	0.288	0.159
Radioterapia (si, no)	50%	50%	50%	2.222	0.136	0.678	0.001
Cirugía (radical, conser.)	50%	100%	50%	0.854	0.355	0.706	0.460

*SBR: Scarff-Bloom-Richardson

S= porcentaje de individuos que no han muerto después de cinco años de seguimiento.

LR= Long Rank test (Mantel-Cox), Exp(B)= Hazard Ratio, p= valor de p

na se ha asociado con pobre grado histológico, enfermedad a ganglios linfáticos e incremento en el número de ganglios afectados. A este respecto, de las pacientes que sobreexpresaron HER2/neu tuvieron afección a ganglios linfáticos 21% (RM= 1.09, IC 95%: 0.84 a 1.41).³⁶ Se ha reportado una relación inversa entre la expresión de HER2/neu y los receptores de estrógenos-progesterona. Nuestros casos tuvieron una correlación inversa y moderada ($r = -0.457$) que fue estadísticamente significativa ($p = 0.01$).³⁷

A partir de la introducción de la clasificación de subtipos intrínsecos de cáncer de mama³⁸ comenzó a discutirse la significación pronóstica de varios subtipos^{23,39-42} y la positividad al subtipo HER2/neu se ha asociado con peor pronóstico y el luminal A con mejor.⁴³

De los 596 tumores que pudieron clasificarse por subtipo específico, el luminal A fue el más común (33.66%) y asociado con el grado histológico III en 69.2%, seguido del subtipo triple negativo (28.47%), también asociado con pobre grado de diferenciación (64.7%). En tercer lugar se obtuvo el subtipo HER2/neu (18.09%) y en menor proporción el mixto (12.89%) y luminal B (6.7%) ($p > 0.0001$). La información obtenida en España por Arrechea-Irigoyen y colaboradores, en 272 carcinomas de mama, reveló que el fenotipo predominante era el luminal A (62.5%), seguido de

los tipos luminal B (18%) y en tercer lugar el subtipo HER2/neu (9.9%). Nuestros resultados son consistentes con este y otros estudios similares.⁴² El subtipo triple negativo tuvo una prevalencia sobresaliente que se asoció con mayor recurrencia (25.3%) y persistencia de la enfermedad (6.5%) y, en conjunto con el subgrupo HER2/neu, representaron 48% de las recurrencias asociadas con el grado histológico III.

En el análisis univariado los tumores luminal B se relacionaron con peor pronóstico para recaída de la enfermedad en comparación con otros subtipos; en estudios similares efectuados alrededor del mundo se han reportado resultados parecidos. Sin embargo, el análisis multivariado no reveló diferencias significativas en recurrencia de acuerdo con el estado de los receptores hormonales y el grado histológico SBR. Esto quizás no concuerde con los estudios previos; sin embargo, la interpretación a este hecho requiere hacerse cautelosamente porque en nuestros resultados pudo haber influido la heterogeneidad biológica de los tumores, la inclusión tardía del tratamiento con trastuzumab en muchas de nuestras pacientes por falta de acceso a esta terapia, que fue introducida en nuestra institución después del año 2008 y las discrepancias raciales y étnicas.

El análisis de supervivencia a cinco años del diagnóstico y ajustado por el grado de diferenciación SBR reve-

ló una asociación directa con la sobreexpresión de HER2/neu con menor supervivencia. El bajo grado (III) del tumor se asoció con mayor sobreexpresión de receptores de estrógenos y receptores de progesterona. El subtipo mixto (HER2/neu, receptores de estrógenos y de progesterona positivos) se asoció con mejor supervivencia de las pacientes ($LR = 5.191, p = 0.023$), situación que se explica por la mejor respuesta a la terapia endocrina.

Conclusiones

Nuestros resultados son consistentes con los estudios previos que demuestran significación pronóstica independiente para el grado histológico SBR o su modificación de Nottingham que no se encuentran libres de problemas de interpretación y aplicación en los servicios de Patología.^{2,7} Se confirma la importancia de los marcadores de receptores de estrógeno y de progesterona y HER2/neu en la clasificación histológica del cáncer de mama para la evaluación pronóstica que permite informar a la paciente la posible evolución de su enfermedad y elegir el tratamiento más apropiado.

Agradecimientos

Al Instituto Mexicano del Seguro Social por el soporte técnico, humano y financiero en la realización de las pruebas clínicas y de patología, así como el acceso a información en archivos clínicos.

Los autores también agradecen a los médicos oncólogos Pedro Adrián González Rivera y Mario Alberto Chávez Zamudio, por su colaboración en el reclutamiento de algunos pacientes a este estudio, y al médico patólogo Miguel Ángel Ortiz Martínez por su inestimable colaboración en el análisis de algunas muestras de patología.

Referencias

- Bloom HJG, Richardson WW. Histological Grading and Prognosis in Breast Cancer. A Study of 1409 Cases of which 359 have been Followed for 15 Years. *Br J Cancer*. 1957;11(3):359-377.
- Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991;19(5):403-410.
- Greenough RB. Varying Degrees of Malignancy in Cancer of the Breast. *J. Cancer Res.* 1925;9:452-463.
- Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic Factors in Breast Cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med*. 2000;124(7):966-978.
- Gao F, Carter G, Tseng G, Chivukula M. Clinical Importance of Histologic grading of Lobular Carcinoma in situ (LCIS) in Breast Core Needle Biopsy Specimens. *Am J Clin Pathol*. 2010;133:767-771.
- Lundin J, Lundin M, Holli K, Kataja V, Elomaa L, Pylkkänen L, et al. Omission of Histologic Grading From Clinical Decision Making May Result in Overuse of Adjuvant Therapies in Breast Cancer: Results From a Nationwide Study. *J Clin Oncol*. 2001;19(1):28-36.
- Pereira H, Pinder SE, Sibbering DM, Galea MH, Elston CW, Blamey RW, et al. Pathological prognostic factors in breast cancer. IV: Should you be a typer or a grader? A comparative study of two histological prognostic features in operable breast carcinoma. *Histopathology*. 1995;27(3):219-226.
- Rakha EA, El-Sayed ME, Lee AHS, Elston CW, Grainge MJ, Hodi Z, et al. Prognostic Significance of Nottingham Histologic Grade in Invasive Breast Carcinoma. *J Clin Oncol*. 2008;26(19):3153-3158.
- Davis BW, Gelber RD, Goldhirsch A, Hartmann WH, Locher GW, Reed R, et al. Prognostic significance of tumor grade in clinical trials of adjuvant therapy for breast cancer with axillary lymph node metastasis. *Cancer*. 1986;58(12):2662-2670.
- Otsuki Y, Shimizu S, Suwa K, Yoshida M, Kanzaki M, Kobayashi H. Which is Better Pathological Prognostic Factor, the Nottingham Histological Grade or the Japanese Nuclear Grade? A Large Scale Study with a Long-term Follow-up. *Jpn J Clin Oncol*. 2007;37(4):266-274.
- Chen ST, Lai HW, Tseng HS, Chen LS, Kuo SJ, Chen DR. Correlation of Histologic Grade With Other Clinicopathological Parameters, Intrinsic Subtype, and Patients' Clinical Outcome in Taiwanese Women. *Jpn J Clin Oncol*. 2011;41(12):1327-1335.
- Beck AH, Sangoi AR, Leung S, Marinelli RJ, Nielsen TO, van de Vijver MJ, et al. Systematic Analysis of Breast Cancer Morphology Uncovers Stromal Features Associated with Survival. *Sci Transl Med*. 2011;3(108):108ra-113.
- Wishart GC, Bajdik CD, Azzato EM, Dicks E, Greenberg DC, Rashbass J, et al. A population-based validation of the prognostic model PREDICT for early breast cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2011;37(5):411-417.
- Tambasco M, Eliasziw M, Magliocco AM. Morphologic complexity of epithelial architecture for predicting invasive breast cancer survival. *J Transl Med*. 2010;8:140.
- Gerson R, Alban F, Villalobos A, Serrano A. Recurrence and survival rates among early breast cancer cases with triple negative immunophenotype. *Gac Med Mex*. 2008;144(1):27-34.
- Cortés-Flores AO, Morgan-Villela G, Castro-Cervantes JM, Vázquez-Camacho G, Fuentes-Orozco C, González-Ojeda A. Tratamiento neoadyuvante del cáncer de mama localmente avanzado. Comparación de dos esquemas a base de docetaxel-epirubicina versus 5-fluorouracilo-epirubicina-cyclophosphamida. *Cir Ciruj*. 2008;76(1):23-28.
- Ocón Hernández O, Fernández Cabrera MF, Pérez Vicente S, Dávila Arias C, Expósito Hernández J, Olea Serrano N. Breast cancer survival after 10 years of follow up, in Granada and Almería Spanish Provinces. *Rev Esp Salud Pública*. 2010;84(6):705-715.
- Lara-Medina F, Pérez-Sánchez V, Saavedra-Pérez D, Blake-Cerdeña M, Arce C, Motola-Kuba D, et al. Triple-negative breast cancer in Hispanic patients: high prevalence, poor prognosis, and association with menopausal status, body mass index, and parity. *Cancer*. 2011;117(16):3658-3669.
- Chou SE, Huang CY, Sheen-Chen SM, Liu YW, Tsai CH, Lin YH, et al. An Evaluation of Prognostic Value of Death-associated Protein Kinase 1 in Breast Cancer. *Anticancer Res*. 2011;31(10):3633-3636.
- Cheang MCU, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK, et al. Basal-Like Breast Cancer Defined by Five Biomarkers Has Superior Prognostic Value than Triple-Negative Phenotype. *Clin Cancer Res*. 2008;14(5):1368-1376.

21. Park YH, Lee SJ, Cho EY, Choi YL, Lee JE, Nam SJ, et al. Clinical relevance of TNM staging system according to breast cancer subtypes. *Ann Oncol.* 2011;22(7):1554-1560.
22. Kreike B, Halfwerk H, Armstrong N, Bult P, Foekens JA, Veltkamp SC, et al. Local Recurrence after Breast-Sparing Therapy in Relation to Gene Expression Patterns in a Large Series of Patients. *Clin Cancer Res.* 2009;15(12):4181-4190.
23. Slanger TE, Chang-Claude JC, Obi N, Kropp S, Berger J, Vettorazzi E, et al. Menopausal Hormone Therapy and Risk of Clinical Breast Cancer Subtypes. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009;18(4):1188-1196.
24. Nouh M, Ismail H, El-Din NH, El-Bolkainy MN. Lymph node metastasis in breast carcinoma: clinicopathological correlations in 3747 patients. *J Egypt Natl Canc Inst.* 2004;16(1):50-56.
25. Frierson HF Jr, Wolber RA, Berean KW, Franquemont DW, Gaffey MJ, Boyd JC, et al. Interobserver reproducibility of the Nottingham modification of the Bloom and Richardson histologic grading scheme for infiltrating ductal carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 1995;103(2):195-198.
26. Robbins P, Pinder S, de Klerk N, Dawkins H, Harvey J, Sterrett G, et al. Histological grading of breast carcinomas: A study of interobserver agreement. *Hum Pathol.* 1995;26(8):873-879.
27. Azizun-Nisa, Bhurgri Y, Raza F, Kayani N. Comparison of ER, PR & HER-2/neu (C-erb B 2) Reactivity Pattern with Histologic Grade, Tumor Size and Lymph Node Status in Breast Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2008;9(4):553-556.
28. Mori I, Yang Q, Kakudo K. Predictive and prognostic markers for invasive breast cancer. *Pathol Int.* 2002;52(3):186-194.
29. Barnes DM, Hanby AM. Oestrogen and progesterone receptors in breast cancer: past, present and future. *Histopathology.* 2001;38(3):271-274.
30. Sotiriou C, Wirapati P, Loi S, Harris A, Fox S, Smeds J, et al. Gene Expression Profiling in Breast Cancer: Understanding the Molecular Basis of Histologic Grade to Improve Prognosis. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98(4):262-272.
31. Liedtke C, Hatzis C, Symmans WF, Desmedt C, Haibe-Kains B, Valero V, et al. Genomic Grade Index Is Associated With Response to Chemotherapy in Patients With Breast Cancer. *J Clin Oncol.* 2009;27(19):3185-3191.
32. McGuire WL, Clark GM. The prognostic role of progesterone receptors in human breast cancer. *Semin Oncol.* 1983;10(4 Suppl 4):2-6.
33. Hung MC, Lau YK. Basic science of HER-2/neu: a review. *Semin Oncol.* 1999;26(4 Suppl 12):51-59.
34. Lovekin C, Ellis IO, Locker A, Robertson JF, Bell J, Nicholson R, et al. c-erbB-2 oncoprotein expression in primary and advanced breast cancer. *Br J Cancer.* 1991;63(3):439-443.
35. Suo Z, Risberg B, Karlsson MG, Villman K, Skovlund E, Nesland JM. The Expression of EGFR Family Ligands in Breast Carcinomas. *Int J Surg Pathol.* 2002;10(2):91-99.
36. Slaton DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science.* 1987;235(4785):177-182.
37. Zeillinger R, Kury F, Czerwenka K, Kubista E, Sliutz G, Knogler W, et al. HER-2 amplification, steroid receptors and epidermal growth factor receptor in primary breast cancer. *Oncogene.* 1989;4(1):109-114.
38. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2000;406(6797):747-752.
39. Parker JS, Mullins M, Cheang MC, Leung S, Voduc D, Vickery T, et al. Supervised Risk Predictor of Breast Cancer Based on Intrinsic Subtypes. *J Clin Oncol.* 2009;27(8):1160-1167.
40. Park HS, Kim S, Kim K, Yoo H, Chae BJ, Bae JS, et al. Pattern of distant recurrence according to the molecular subtypes in Korean women with breast cancer. *World J Surg Oncol.* 2012;10:4.
41. Piñero-Madrona A, Polo-García L, Alonso-Romero JL, Salinas-Ramos J, Canteras-Jordana M, Sola-Pérez J, et al. Características inmunohistoquímicas del cáncer de mama: ¿hacia una nueva clasificación? *Cir Esp.* 2008;84(3):138-145.
42. Irigoyen MA, García FV, Iturriagagoitia AC, Beroiz BI, Martínez MS, Grima FG. Molecular subtypes of breast cancer: prognostic implications and clinical and immunohistochemical characteristics. *An Sist Sanit Navar.* 2011;34(2):219-233.