

Aplicaciones prácticas de la inmunohistoquímica en la patología de la glándula mamaria

Natalia Vilches Cisneros,* Oralía Barboza Quintana,* Raquel Garza Guajardo,* Jesús Añcer Rodríguez,* Juan Pablo Flores Gutiérrez*

RESUMEN

Los procesos patológicos que afectan la glándula mamaria son muy variados, lo que convierte su diagnóstico en un reto para el patólogo. El advenimiento de la inmunohistoquímica ha facilitado en gran medida la realización de diagnósticos certeros. El presente artículo revisa los marcadores inmunohistoquímicos que se utilizan con mayor frecuencia en el diagnóstico de las enfermedades de la glándula mamaria desde una perspectiva diagnóstica, pronóstica y predictiva. Entre las principales aplicaciones de esta técnica se encuentran: lesiones proliferativas epiteliales, lesiones papilares, carcinoma *in situ* ductal vs lobulillar, lesiones esclerosantes y carcinoma *in situ* vs carcinoma invasor.

Palabras clave: glándula mamaria, inmunohistoquímica.

ABSTRACT

Pathological processes affecting mammary gland are very varied, which makes its diagnosis a challenge for pathologist. Immunohistochemistry advent has greatly facilitated to do accurate diagnoses. This paper review the immunohistochemical markers most frequently used in the diagnosis of mammary gland diseases from a diagnostic, prognostic and predictive point of view. The main applications of this technique are: epithelial proliferative lesions, papillary lesions, ductal vs lobulillar *in situ* carcinoma, sclerosing lesions and *in situ* vs invasive carcinoma.

Key words: mammary gland, immunohistochemistry.

Los procesos patológicos que afectan la glándula mamaria son muy variados, lo que convierte su diagnóstico en un reto para el patólogo. El advenimiento de la inmunohistoquímica ha facilitado en gran medida la realización de diagnósticos certeros. Los avances en los métodos y procesos inmunohistoquímicos, así como la introducción de nuevos

marcadores han permitido resolver problemas diagnósticos específicos.

Debido a la gran aceptación de la inmunohistoquímica como herramienta diagnóstica, es imprescindible que los patólogos amplíen su conocimiento sobre la técnica, los anticuerpos y sus aplicaciones, así como la interpretación de los mismos. Hay que recordar que la inmunohistoquímica es esencialmente una herramienta diagnóstica, y que los resultados que arroja deben correlacionarse con la morfología y la arquitectura de la lesión.

El objetivo de este artículo es revisar los marcadores inmunohistoquímicos que se utilizan con mayor frecuencia en el diagnóstico de las enfermedades de la glándula mamaria desde una perspectiva diagnóstica, pronóstica y predictiva. Entre las principales aplicaciones de esta técnica se encuentran: lesiones proliferativas epiteliales, lesiones papilares, carcinoma *in situ* ductal vs lobulillar, lesiones esclerosantes y carcinoma *in situ* vs carcinoma invasor.

* Servicio de anatomía patológica y citopatología del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, UANL.

Correspondencia: Dra. Natalia Vilches Cisneros. Av. Francisco I Madero s/n esq. con Gonzalitos, colonia Mitrás Centro, Monterrey NL, CP 64460.

Recibido: junio, 2010. Aceptado: agosto, 2010.

Este artículo debe citarse como: Vilches-Cisneros N, Barboza-Quintana O, Garza-Guajardo R, Añcer-Rodríguez J, Flores-Gutiérrez JP. Aplicaciones prácticas de la inmunohistoquímica en la patología de la glándula mamaria. Patología Rev Latinoam 2010;48(3):194-203.

MANEJO DEL ESPÉCIMEN QUIRÚRGICO

Para obtener resultados confiables con la técnica inmunohistoquímica, debe manejarse el espécimen quirúrgico de forma adecuada. Uno de los procesos más importantes es la fijación del tejido. Una vez removido el espécimen quirúrgico, deberá ser fijado en una solución de formaldehído a 10% buforeado, durante 8 a 72 horas. Los cortes del tejido deben ser de 1 cm², con un grosor no mayor de 5 mm, con la finalidad de que el formaldehído penetre de manera regular en el tejido; esto evitará que se generen artificios que pudieran complicar la interpretación. Las muestras pequeñas, como las biopsias por punción con aguja gruesa o biopsias por tru-cut, requieren el mismo tiempo de fijación.

Cada uno de los protocolos de inmunotinción debe estandarizarse de acuerdo con el anticuerpo a utilizar, la dilución, el método de recuperación de antígeno, la forma de visualización y el tipo de revelador, ya que cualquier falla o variación en estos procesos puede llegar a modificar los resultados. También se deberá contar con controles positivos y negativos en cada una de las pruebas realizadas.¹

LESIONES PROLIFERATIVAS EPITELIALES

Hiperplasia ductal usual, hiperplasia ductal atípica y carcinoma ductal *in situ* de grado bajo

La hiperplasia ductal se clasifica en dos categorías: la usual y la atípica. La ductal puede ser desde leve hasta florida. La importancia de diferenciar entre ambas categorías es que, a pesar de que no se consideran lesiones preneoplásicas, las dos aumentan el riesgo de padecer subsecuentemente carcinoma invasor. La hiperplasia usual aumenta 1.6 el riesgo relativo, mientras que la atípica lo eleva de 3.7 a 5.3 (o más en mujeres premenopáusicas o en pacientes con riesgo alto). Los marcadores más utilizados para este propósito son las citoqueratinas de alto peso molecular CK 5/6 y CK 34 betaE12. Normalmente estas citoqueratinas se expresan en las células mioepiteliales y células basales de los conductos mamarios. En la hiperplasia ductal usual, las células que proliferan muestran positividad para CK 34 beta y para CK 5/6, y se observa negatividad en la variedad atípica y en el carcinoma ductal *in situ*² (Figura 1). Aproximadamente en 10% de los casos, estos dos marcadores pueden expresarse débilmente o en porcentajes bajos en

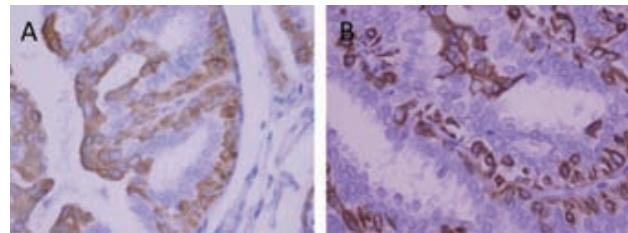


Figura 1. A. CK 5/6 en hiperplasia ductal usual. B. CK 34 betaE12. En ambos casos, el marcador tñe las células de la superficie. Nótese la intensidad de tinción entre los dos marcadores. Las figuras de este artículo aparecen a color en el anexo 5 de este número.

las hiperplasias atípicas y en el carcinoma ductal *in situ*.³ De 90 a 100% de las hiperplasias usuales son fuertemente positivas para CK 34 beta, mientras que en las atípicas y el carcinoma ductal *in situ* este marcador es negativo en 80 a 100%. La CK 5/6 muestra menos reactividad en este carcinoma que la CK 34 beta, por lo que hace más sencilla su interpretación. Una consideración importante a este respecto es que se debe tener mucho cuidado con la interpretación de los marcadores, ya que la CK 34 beta es fuertemente positiva en los carcinomas lobulillares *in situ* en 80 a 100% de los casos, mientras que la CK 5/6 no se expresa en ellos (Cuadro 1), lo cual puede ayudar a diferenciar ambos tipos de carcinoma junto con otros marcadores más específicos (ver adelante).⁴

Cuadro 1. Expresión de marcadores mioepiteliales en lesiones proliferativas de la glándula mamaria

	Hiperplasia ductal usual	Hiperplasia ductal atípica	Carcinoma ductal <i>in situ</i>
CK 5/6	+++	+/-	-
CK 34 betaE12	+++	+/-	-

+++: fuertemente positiva; +/-: tinción débil o ausente; -: tinción ausente.

LESIONES PAPILARES

Papiloma vs carcinoma papilar *in situ* vs carcinoma papilar invasor

Las lesiones papilares de la glándula mamaria son un reto para los patólogos, sobre todo cuando se analizan en biopsias por tru-cut o aguja gruesa. Una vez más, las células a evaluar en las lesiones papilares para hacer diagnóstico diferencial entre papilomas y carcinomas papilares son las

mioepiteliales, por lo cual se deben incluir marcadores con alta especificidad en su localización. Los marcadores más utilizados para este propósito son p63, actina de músculo liso, calponina, miosina de cadenas pesadas y CD10. Con excepción del p63, los demás marcadores expresan tinción citoplasmática, de membrana (o ambas) y pueden manifestarse de manera variable en células epiteliales, células miofibroblásticas, vasos sanguíneos y células estromales, que también forman parte de las lesiones papilares, por lo que hay que analizar minuciosamente la interpretación de dichos marcadores.⁵ El panel ideal para estudiar las lesiones papilares debe incluir un marcador nuclear y dos citoplasmáticos. En las lesiones papilares benignas (papilomas), los marcadores deben expresarse continuamente en la totalidad de las papilas, así como en el contorno externo del papiloma (Figura 2). Estos marcadores se ven ausentes o disminuidos en su expresión en las áreas en donde coexisten focos de hiperplasia ductal atípica o

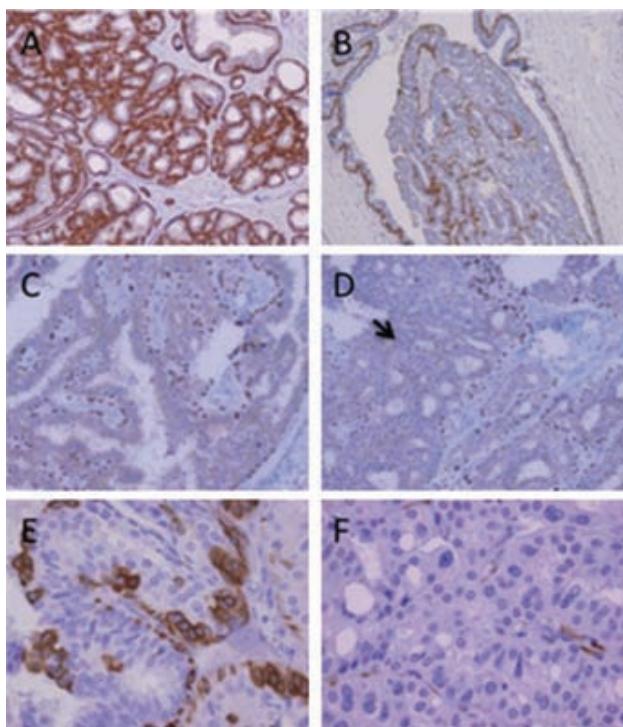


Figura 2. A. Expresión de miosina de cadenas pesadas en las células mioepiteliales. B. Calponina en un papiloma intraductal. C. Expresión de p63 en un papiloma intraductal; obsérvese la tinción nuclear en forma continua. D. Papiloma con foco de carcinoma *in situ*; se aprecia la falta de expresión de p63 (flecha). E. Acercamiento de C marcado con CK 5. F. Acercamiento de D marcado con calponina; nótese la ausencia de vasos y células mioepiteliales, así como la atipia nuclear.

carcinoma ductal *in situ* en el mismo papiloma. Asimismo, cuando se trata de un carcinoma *in situ* papilar o de un carcinoma intraquístico, estos marcadores están ausentes o marcadamente disminuidos en las papilas; cuando no se observan en el contorno del papiloma se debe sospechar un carcinoma papilar invasor⁶ (Figura 2). Se pueden utilizar citoqueratinas de alto peso molecular como la CK 5/6, la CK 14 y la CK 34 beta (coctel de CK 1, 5, 10 y 14); sin embargo, también pueden mostrar tinción variable en las células epiteliales; de igual forma, su expresión es marcada en los papilomas, y se ve disminuida o ausente en los carcinomas papilares *in situ* y en los carcinomas papilares. Otros autores han descrito el uso de receptores de estrógeno para distinguir el carcinoma *in situ* de los papilomas, ya que en los primeros la expresión es fuerte y difusa y en los papilomas es débil y focal.⁷ El panel recomendado para reducir la variabilidad interobservador e incrementar la precisión diagnóstica es p63, CK 5/6 y calponina (Cuadro 2).^{8,9} El p63 ha demostrado ser superior al resto de los marcadores por su sensibilidad y especificidad, dado que no muestra reacción cruzada con otros componentes celulares en las lesiones papilares.¹⁰

CARCINOMA *IN SITU*

Carcinoma ductal *in situ* vs carcinoma lobulillar *in situ* y sus variantes

El diagnóstico del carcinoma *in situ*, ya sea lobulillar o ductal, se basa en criterios morfológicos, y la mayor parte de las ocasiones no representa ningún problema; sin embargo, el diagnóstico diferencial entre estas dos lesiones a veces es difícil, sobre todo en los carcinomas *in situ* de tipo sólido de grado bajo, en los carcinomas lobulillares pleomórficos de

Cuadro 2. Expresión de marcadores mioepiteliales en lesiones papilares de la glándula mamaria

Papiloma	Papiloma asociado con carcinoma <i>in situ</i> o hiperplasia ductal atípica	Carcinoma papilar intraquístico
p63	+++	+/-
CK 5/6	+++	+/-
Calponina	+++	+/-

+++: tinción intensa; +/-: tinción débil o ausente; -: tinción ausente.

Nota: en el carcinoma invasor se pierde la expresión de los marcadores en la periferia del contorno de la lesión papilar.

grado alto con comedonecrosis y en las biopsias con aguja gruesa. La importancia de diferenciar ambas lesiones radica en que mientras el lobulillar puede ser manejado con vigilancia radiográfica y tamoxifeno, el ductal requiere escisión de la lesión más radioterapia y mastectomía parcial, según el estado de los márgenes quirúrgicos.

Uno de los marcadores que ayudan a diferenciar ambas lesiones es la E-cadherina, una proteína de adhesión celular que se encuentra codificada en un gen del cromosoma 16q22.1. Este marcador se expresa normalmente en los carcinomas ductales *in situ* con un patrón de membrana, mientras que los lobulillares clásicos y pleomórficos pierden esta expresión. Otro marcador que permite distinguir entre ambos carcinomas es la CK 34 beta, que es una proteína de alto peso molecular también conocida como CK 903, la cual se expresa en forma difusa con reforzamiento paranuclear en los lobulillares, mientras que los ductales no la expresan o lo hacen en un grado mínimo (Figura 3). La CK 8 también puede ayudar en el diagnóstico diferencial, y a pesar de que en ambas lesiones es positiva, el patrón de expresión es disímil: en el ductal es citoplasmático y de membrana, y en el lobulillar es perinuclear.¹¹ Algunos autores refieren que el mejor panel para distinguir ambos carcinomas es la combinación de E-cadherina y CK 34 beta, que revela la expresión opuesta de los marcadores. En diversas publicaciones se ha difundido que E-cadherina y CK 34 beta pueden coexpresarse en una misma lesión, llamada lesión híbrida, lesión de colisión o lesión con hallazgos combinados o indeterminados de carcinomas ductal y lobulillar *in situ*.¹² Otro marcador para diferenciar los carcinomas es p120 catenina, que se expresa con tinción citoplasmática y de membrana en el ductal y sólo con la primera en los lobulillares (Cuadro 3).¹³

Existen referencias de expresión aberrante de E-cadherina en los carcinomas lobulillares *in situ* y en los invasores. Da Silva y col. observaron la expresión aberrante de este marcador en lesiones lobulillares, y confirmaron la variedad histológica mediante estudios moleculares. Describieron que en estos casos, el patrón de tinción de E-cadherina es sólo citoplasmático, granular o de membrana incompleto, y concluyeron que el hecho de que la E-cadherina se exprese en dichas lesiones no descarta la posibilidad de que se trate de una lesión lobulillar, por lo que estos tipos de expresión deben tenerse en consideración en los casos en que la morfología oriente a una neoplasia lobulillar.¹⁴

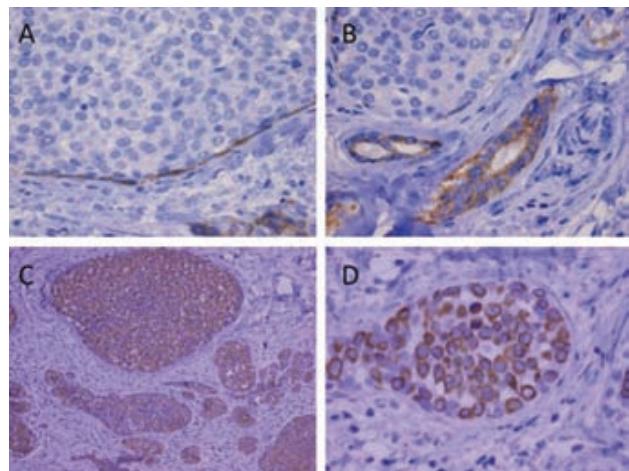


Figura 3. A. E-cadherina en un carcinoma lobulillar *in situ*. B. E-cadherina en carcinoma lobulillar *in situ* asociado con carcinoma tubular; notese la expresión de membrana del carcinoma tubular. C y D. Expresión de CK 8 en carcinoma lobulillar *in situ*.

Cuadro 3. Expresión de marcadores en carcinoma ductal *in situ* vs carcinoma lobulillar *in situ*

	<i>Carcinoma ductal in situ</i>	<i>Carcinoma lobulillar in situ</i>
E-cadherina	Fuertemente positivo con patrón de membrana	Negativo
CK 34 betaE12	Negativo	Positivo con patrón citoplasmático
CK 8	Positivo con patrón de membrana	Positivo con patrón perinuclear
p120	Positivo con patrón intenso de membrana	Positivo con tinción intensa citoplasmática

LESIONES ESCLEROSEANTES Y CARCINOMA *IN SITU* VS CARCINOMA INVASOR

Diversos padecimientos de la glándula mamaria implican dificultades diagnósticas, sobre todo cuando se analizan biopsias pequeñas o tomadas con aguja gruesa (tru-cut); por ejemplo, distinguir las glándulas distorsionadas por una cicatriz radiada de un carcinoma tubular, un carcinoma *in situ* localizado entre áreas de adenosis esclerosante, un carcinoma invasor que puede estar en zonas esclerosadas o de inflamación severa, o un carcinoma *in situ* multifocal, en donde deben buscarse intencionadamente indicios de invasión.

La invasión ocurre cuando las células epiteliales malignas rompen la membrana basal y se extienden más allá

de la capa de células mioepiteliales. Por tanto, la forma de comprobar la invasión es demostrando que la capa de células epiteliales se encuentra ausente o es discontinua e invade el estroma.

La primera manera de corroborar la invasión por medio de inmunohistoquímica fue con laminina y colágena IV, con sus limitaciones por problemas de interpretación. Años después se incorporaron los anticuerpos para las células mioepiteliales.¹⁵

En la actualidad, se cuenta con diversos anticuerpos que marcan a las células mioepiteliales, entre ellos están: p63, miosina de cadenas pesadas, calponina, actina de músculo liso, CD10, CK 34 beta, CK 5, CK 5/6 y CK 17.

Cada uno de estos anticuerpos tiene diferente sensibilidad y especificidad, así como ventajas y desventajas.

El p63 es uno los anticuerpos más utilizados por ser un marcador con gran sensibilidad y especificidad. Su patrón de inmunotinción es nuclear y discontinuo en los conductos mamarios normales, y son nulas las reacciones cruzadas con otras células del tejido mamario. Las desventajas son limitadas y están en relación con su expresión en carcinomas o lesiones de células mioepiteliales y lesiones con diferenciación escamosa, motivo por el cual hay que correlacionar la morfología de la lesión con dicho marcador. La ventaja más importante es que no marca los vasos ni las células miofibroblásticas.¹⁶⁻¹⁸ La calponina, la actina de músculo liso y la miosina de cadenas pesadas son marcadores sumamente sensibles; sin embargo, tiñen los vasos y las células miofibroblásticas, lo cual puede interferir en la interpretación, sobre todo cuando éstos quedan en la periferia del carcinoma invasor. De los tres marcadores, la miosina de cadenas pesadas es la que muestra menos reactividad para vasos y células miofibroblásticas.^{19,20}

Las citoqueratinas de alto peso molecular también se han utilizado como marcadores de células mioepiteliales, con la desventaja de que son menos sensibles a los marcadores mencionados, y también tiñen frecuentemente las células epiteliales, lo cual les confiere una baja especificidad. La citoqueratina de alto peso molecular más sensible es la CK 5.²¹

Los demás marcadores, como CD10, CK 17 y otros, como S-100, no se describen por la baja sensibilidad y su dificultad para interpretarlos.

Hilson y col. declararon que las células mioepiteliales que revisten a los carcinomas *in situ* y a algunas lesiones

esclerosantes muestran diferencias genotípicas de las células mioepiteliales que cubren a los conductos mamarios normales; de igual forma, estas células revelan una disminución en la intensidad de tinción o falta de expresión con marcadores mioepiteliales. En particular, la miosina de cadenas pesadas, la CD10, el p63 y la calponina minimizan la intensidad de la expresión en 21, 15, 9 y 6%, respectivamente.²²

El panel más recomendado por los expertos para la valoración de células mioepiteliales es p63, miosina de cadenas pesadas y calponina (Figura 4).

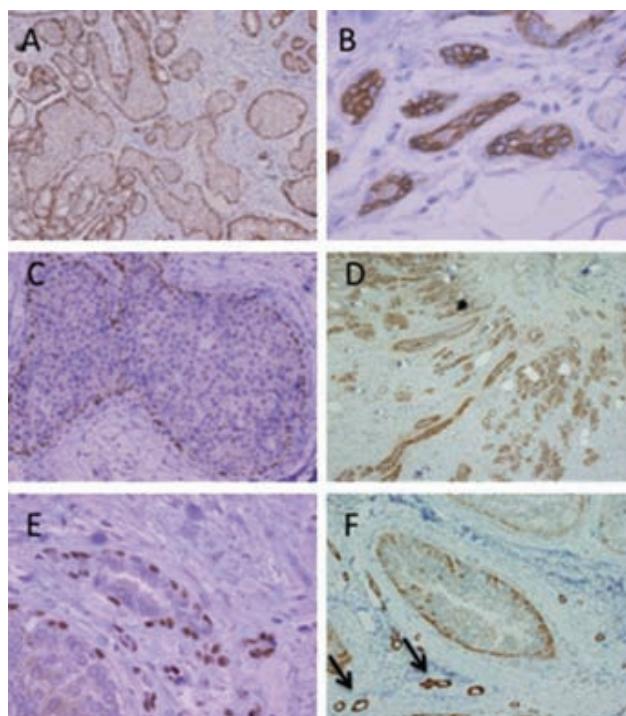


Figura 4. A. Calponina en un carcinoma ductal *in situ*. B. CK 5 en glándulas sospechosas de carcinoma tubular. C. p63 en carcinoma *in situ*; se aprecia que existen áreas discontinuas. D. CD10 en una cicatriz radial. E. p63 en área sospechosa de carcinoma tubular. F. Miosina de cadenas pesadas en carcinoma tubular; se nota la fuerte tinción en los vasos (flecha).

INMUNOFENOTIPO DE VARIEDADES ESPECIALES DE CARCINOMAS

Carcinoma lobulillar invasor

La importancia de diferenciar este carcinoma del ductal invasor radica en que cada uno exhibe un patrón clínico y pronóstico particular. El carcinoma lobulillar infiltrante

con frecuencia es más extenso de lo que muestran los estudios de imagen (mamografía); tiende a ser multicéntrico y bilateral; las metástasis ocurren en el peritoneo, los huesos, la médula ósea, el tubo gastrointestinal y los órganos genitales.²³

Los marcadores que ayudan a hacer el diagnóstico diferencial son: E-cadherina y p120 catenina. La E-cadherina es una glucoproteína de transmembrana con función en la adhesión celular. Su patrón de expresión en los carcinomas ductales infiltrantes es de membrana. En los lobulillares, esta proteína no se expresa debido a una mutación somática del gen E-cadherina.²⁴

La p120 catenina es una proteína relacionada con la E-cadherina, con la cual forma parte del complejo cadherina-catenina a nivel citoplasmático. Este complejo es indispensable para establecer las uniones intercelulares. De esta manera, cuando la E-cadherina está mutada se incrementa la proteína p120 citoplasmática. En los carcinomas ductales infiltrantes, la p120 catenina se expresa con patrón de membrana y en los lobulillares infiltrantes su expresión es exclusiva e intensamente citoplasmática.²⁵ Esta misma expresión se observa en los carcinomas lobulillares *in situ* y en las hiperplasias lobulillares atípicas.

Carcinomas basaloides —*basal like*—

Este subtipo de carcinomas se describió por primera vez en los estudios de expresión génica; es un grupo genéticamente bien establecido en la clasificación molecular de los carcinomas de la glándula mamaria. Afectan a mujeres premenopáusicas, en especial a las afroamericanas y latinas. Macroscópicamente, tienen bordes expansivos. Son de grado nuclear alto, con patrón sincitial asociados con una importante reacción inflamatoria y con áreas de necrosis geográfica. Tienden a generar metástasis hematogénas, principalmente al cerebro y a los pulmones. Más de 90% son tumores triples negativos (ER-, PR- y HER2/neu-) y expresan p53 y un alto índice de proliferación con Ki67.²⁶ Establecer el inmunofenotipo de los carcinomas basaloides ha sido tema de controversia; sin embargo, la mayoría de los autores describe el siguiente fenotipo: receptor de estrógeno negativo, receptor de progesterona negativo, HER2/neu negativo, CK 5 o CK 5/6 positivo y EGFR positivo (Figura 5), el cual confiere 100% de especificidad y 76% de sensibilidad en su identificación.²⁷ Otros marcadores que pueden expresar los carcinomas basaloides son: vimentina, CD117 (c-kit), CK 14 y CK 17.

Bhargava y col. demostraron que la CK 5 es más sensible (97%) para identificar a los carcinomas basaloides que la CK 5/6 (59%).²⁸ El mismo inmunofenotipo basal se ha observado en carcinoma *in situ* de tipo basaloido.^{29,30} Existen otros subtipos histológicos que pueden dar marcadores “basales” positivos, como el carcinoma medular, el carcinoma medular atípico, el carcinoma metaplásico y el carcinoma mioepitelial, entre otros, motivo por el cual se debe hacer correlación con los criterios morfológicos para su adecuada clasificación.³¹

Carcinoma micropapilar

El carcinoma micropapilar es un subtipo especial que forma pseudopapilas sin tallo fibrovascular y que infiltra el estroma, dejando espacios alrededor de estas pseudopapilas. Algunos carcinomas con patrón de crecimiento no específico que muestran retracción del estroma pueden simular dicha neoplasia. La importancia de identificar el carcinoma micropapilar yace en la gran afinidad que tiene para invadir los vasos linfáticos, en especial la piel y la

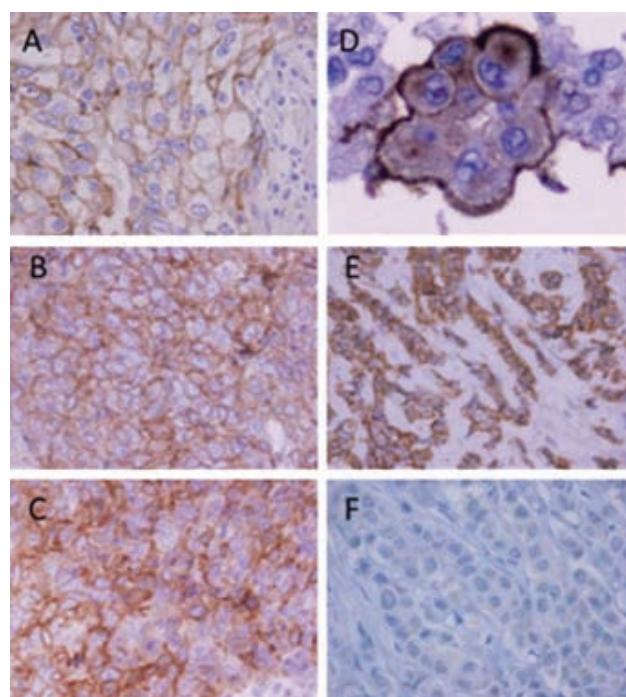


Figura 5. A, B y C. Carcinoma basal con expresión de EGFR, CD117 y CK 5. D. Antígeno de membrana epitelial con expresión periférica de membrana en carcinoma micropapilar. E. E-cadherina en carcinoma ductal que simula carcinoma lobular *in situ*. F. Pérdida de la expresión de E-cadherina en carcinoma lobular *in situ* pleomórfico.

pared del tórax. La incidencia de metástasis a los ganglios linfáticos es, incluso, de 95%.³² El antígeno de membrana epitelial (EMA) y el MUC1, con sus patrones de expresión característicos en el carcinoma micropapilar, ayudan a establecer el tipo histológico. En estos carcinomas, el EMA y MUC1 adquieren un patrón de tinción en la periferia de las papillas, mientras que en los carcinomas que lo simulan, el patrón de expresión del antígeno es luminal o citoplasmático y el del MUC1 es citoplasmático o de membrana completa.³³⁻³⁵

ENFERMEDAD DE PAGET

La enfermedad de Paget se define como la afectación de la epidermis del pezón por células de un carcinoma subadyacente. En 20% de los casos no es posible detectar un carcinoma asociado, por lo que es importante hacer diagnóstico diferencial con otras neoplasias como melanoma y carcinoma escamoso *in situ* (enfermedad de Bowen).

El marcador aislado más útil es la CK 7, además de expresar HER2/neu (80 a 90% de los casos); otros marcadores positivos son el antígeno carcinoembrionario (ACE), el antígeno de membrana epitelial y GCDFP-15.

Los marcadores que se usan para demostrar un melanoma son: S-100, melan A, HMB45 y negativo para CK 7. En la enfermedad de Bowen, el inmunofenotipo es CK 5 o CK 5/6 y p63 positivos y CK 7 negativo.³⁶⁻³⁸ Se deberá elegir un panel de anticuerpos según cada caso, dependiendo de la información clínica.

MARCADORES PREDICTIVOS Y FACTORES PRONÓSTICO

Receptores hormonales

Debe realizarse la prueba de receptores de estrógeno (RE) y la de receptores de progesterona (RP) a todo paciente con diagnóstico nuevo de carcinoma de glándula mamaria o con recurrencia tumoral para determinar el tratamiento a seguir. Los individuos con receptores de estrógeno positivos responden bien a la terapia con tamoxifeno y con inhibidores de la aromatasa. Asimismo, se ha demostrado que las mujeres con RE positivos tienen mayor supervivencia que aquéllas con RE negativos.³⁹ Las nuevas guías de recomendación para la prueba de RE y RP destacan los procedimientos preanalíticos para obtener los mejores resultados, con especial atención a la

calidad de la fijación del tejido, y definen los puntos de corte. Con base en estudios clínicos y en la respuesta al tratamiento, consideran positivo en ambos marcadores a todo tumor que muestre más de 1% de expresión nuclear en cualquier intensidad. El reporte de RE-RP debe incluir siempre el porcentaje de expresión y la intensidad de la tinción (débil, moderada, fuerte). La mayor parte de los carcinomas positivos a los receptores de estrógeno son tumores de grado nuclear bajo, lo cual es de suma importancia, ya que la pérdida de esta correlación puede ser un signo de alerta cuando se obtienen resultados negativos. Un problema significativo en la prueba de receptores de estrógeno son los resultados falsos negativos que se dan aproximadamente en 20% de los casos (en Estados Unidos); esto se debe a fallas en la fase preanalítica, la mayor parte de las veces por una fijación subóptima del espécimen (periodo de fijación menor a seis horas), aunque en algunas ocasiones intervienen factores de la fase analítica en las fallas en el protocolo de la técnica.⁴⁰ Actualmente, los receptores de estrógeno y de progesterona permiten decidir conductas terapéuticas y sirven como factor pronóstico de recurrencia.⁴¹ En biopsias pequeñas y biopsias con aguja gruesa (tru-cut) o con aguja fina es importante considerar que puede existir heterogeneidad tumoral, definida como las diferencias regionales en la expresión fenotípica dentro del mismo tumor, además de que los resultados de los marcadores de inmunohistoquímica pueden ser diferentes en la biopsia y en la resección.⁴²

HER2/neu

Es una proteína de transmembrana de la familia de los receptores de crecimiento epidérmico epitelial que actúa como cinasa de tirosina y favorece el desarrollo celular en gran variedad de lesiones neoplásicas. Histológicamente, los tumores que expresan HER2/neu son tumores de grado nuclear alto, poco diferenciados.⁴³ Esta proteína se expresa aproximadamente en 30% de los carcinomas de glándula mamaria. Es un marcador predictivo de la respuesta al tratamiento de blancos terapéuticos y de la resistencia a la terapia con tamoxifeno.⁴⁴ Se ha mencionado que la sobreexpresión de HER2/neu y topoisomerasa es un marcador predictivo de la respuesta con antraciclinas. Asimismo, HER2/neu puede predecir la respuesta y el efecto del tratamiento con paclitaxel en pacientes con enfermedad metastásica.⁴⁵

La indicación más destacada de la expresión-amplificación de HER2/neu es la de utilizar trastuzumab, un anticuerpo monoclonal que ha tenido efectos sumamente benéficos en pacientes, como el aumento en el porcentaje de respuesta al tratamiento y la disminución de la progresión tumoral, la tasa de recurrencia y la mortalidad. El trastuzumab fue aprobado por la FDA en 1998 para tratar la enfermedad metastásica; en la actualidad puede utilizarse como monoterapia o en conjunto con otros esquemas terapéuticos.⁴⁶

En el 2007 se publicaron nuevas guías para la interpretación de la expresión de la proteína y para la amplificación del gen por el método de FISH y CISH, con base en estudios clínicos y en la respuesta al tratamiento. En la prueba de IHQ se interpretan tres posibles resultados: negativo, indeterminado (no concluyente) y positivo. Estos resultados están en función del porcentaje de expresión en el tumor y la intensidad de la expresión.

Negativo: cero cruces, no tinción; una cruz, tinción débil o incompleta de membranas en menos de 30% del tumor.

Indeterminado (no concluyente): dos cruces, puntos intermedios entre criterios negativos y positivos.

Positivo: tres cruces, tinción uniforme e intensa de membrana (en patrón de doble riel o tela de gallinero) en más de 30% del tumor (Figura 6).

En los casos positivos para HER2/neu por inmunohistoquímica, el paciente debe ser valorado clínicamente para recibir trastuzumab. En los casos negativos se deberá hacer correlación con los marcadores hormonales para normar la conducta terapéutica. En los casos indeterminados (dos cruces) se deberá sugerir realizar prueba de FISH o CISH para saber si existe amplificación del gen HER2. Es importante seguir las recomendaciones de control de calidad de los expertos, para evitar falsos positivos y falsos negativos.⁴⁷

Otros factores pronósticos

Ki67 (MIB-1): es un marcador de proliferación celular de expresión nuclear que tiñe las células en cualquier fase del ciclo, con excepción de la G0. El índice de proliferación se mide en porcentaje, mientras menor sea éste, el tumor tendrá mejor pronóstico. El índice de proliferación también correlaciona con el grado nuclear del tumor, puesto que es mínimo en los de grado bajo.⁴⁸ Múltiples estudios han demostrado que los carcinomas de glándula mamaria que

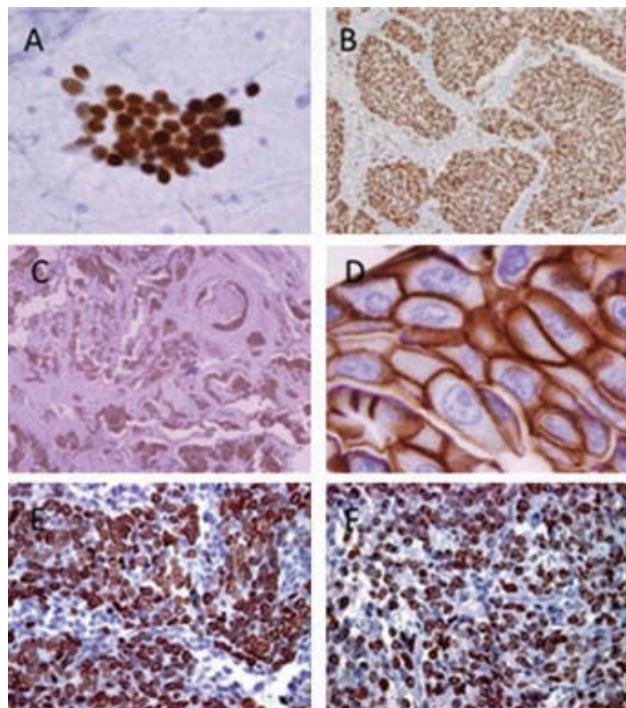


Figura 6. A y B. Receptor de estrógeno en espécimen citológico y biopsia, respectivamente. C y D. HER2/neu positivo 3+; obsérvese el patrón en doble carril. E y F. Carcinoma poco diferenciado con incremento en la expresión de Ki67 y p63, respectivamente.

expresan más de 20% tienen altas cifras de recurrencia y disminución en la supervivencia global.⁴⁹

P53: es un gen supresor de tumor localizado en el cromosoma 17p13, que regula la defensa contra diferentes tipos de carcinomas e interviene en distintas vías moleculares, incluido el ciclo celular, la reparación de ADN y la apoptosis. De 25 a 35% de los carcinomas de glándula mamaria tienen mutaciones somáticas en este gen. Cuando existe mutación del gen, se acumula la proteína en las células malignas. La expresión de este marcador correlaciona con disminución en la supervivencia y en el periodo libre de enfermedad, y con aumento en el riesgo de recurrencia.⁵⁰

Otros marcadores pronósticos son el p16, el p14, el T-box, la ciclina D1, la ciclina E, BRCA1 y BRCA2, VEGA; sin embargo, aún no existe suficiente evidencia de que puedan utilizarse en la práctica diaria.⁴⁹

FOXA1: es un factor de transcripción; su expresión es nuclear y está en relación proporcional con los tumores receptores de estrógeno positivos. El papel de FOXA1 aún no está claro; sin embargo, en algunos estudios

moleculares se ha observado que está en relación con el funcionamiento y la regulación de los receptores de estrógeno. Se ha comprobado que cuando se expresa en conjunto con éstos tiene un valor pronóstico favorable.⁵¹

Otros marcadores utilizados en patología de la glándula mamaria

GCDFP15: se ha utilizado durante muchos años como un marcador específico de tejido mamario; sin embargo, en el tejido fijado en parafina es menos que óptimo y tiene menor sensibilidad en biopsias pequeñas. La expresión de este marcador es en parches y citoplasmático.

Mamoglobina: ha demostrado ser un marcador más sensible que GCDFP15; no obstante, es menos específico. También se expresa en carcinomas endometrioides y ocasionalmente en melanomas. Una combinación de GCDFP15 y mamoglobina puede aumentar la certeza diagnóstica, con excepción de los carcinomas de glándulas salivales y de anexos cutáneos, en donde ambas también son positivas.⁵²

D2-40: es un marcador que se expresa en el endotelio de los vasos linfáticos —pero no en el de los vasos sanguíneos (figura 7)—, por tal razón, es un factor pronóstico importante en los carcinomas de la glándula mamaria. También se expresa en forma débil en las células mioepiteliales de los conductos mamarios normales.⁵³

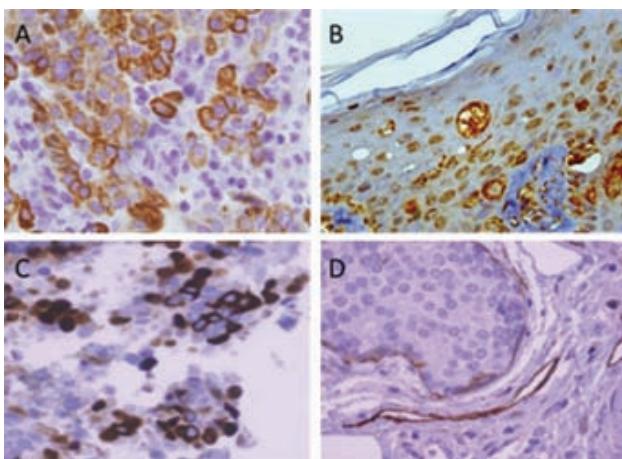


Figura 7. A. Expresión de GCDFP15 en carcinoma metastásico a ganglio axilar. B. GCDFP15 en enfermedad de Paget del pezón. C. Mamoglobina en espécimen citológico de biopsia por aspiración de carcinoma metastásico en tejidos blandos del tórax. D. D2-40; se aprecia la leve positividad en las células mioepiteliales del carcinoma *in situ* en comparación con el vaso linfático adyacente.

REFERENCIAS

1. Dabbs DJ, Taylor CR, Shi SR, Barr N. Techniques of immunohistochemistry: Principles, pitfalls and standardization. 3rd ed. Philadelphia, PA: Schmitt W, 2002;p:13-18.
2. Bhargava R, Dabbs D. Use of immunohistochemistry in diagnosis of breast epithelial lesions. Adv Anat Pathol 2007;14:93-107.
3. Yeh T, Mies C. Application of immunohistochemistry to breast lesions. Arch Pathol Lab Med 2008;132:349-358.
4. Lerwill M. Current practical applications of diagnostic immunohistochemistry in breast pathology. Am J Surg Pathol 2004;28:1076-1091.
5. Hill CB, Yeh IT. Myoepithelial cell staining patterns of papillary breast lesions: from intraductal papillomas to invasive papillary carcinomas. Am J Surg Pathol 2005;123:36-44.
6. Sheridan T, Ioffe OB. Papillary lesions of the breast. Pathology Case Reviews 2009;14:147-156.
7. Mulligan AM, O'Malley FP. Papillary lesions of breast: a review. Adv Anat Pathol 2007;14:108-119.
8. Douglas-Jones A, Shah V, Morgan J, Dallimore N, Rashid N. Observer variability in the histopathological reporting of core biopsies of papillary breast lesions is reduced by the use of immunohistochemistry for CK5/6, calponin and p63. Histopathology 2005;47:202-208.
9. Shah VI, Flowers CI, Douglas-Jones AG, Dallimore NS, Rashid N. Immunohistochemistry increases the accuracy of diagnosis of benign papillary lesions in breast core needle specimens. Histopathology 2006;48:683-691.
10. Tse G, Tan P-H, Lui PC, Gilks CB, et al. The role of immunohistochemistry for smooth-muscle actin, p63, CD10 and CK14 in the differential diagnosis of papillary lesions of breast. J Clin Pathol 2007;60:315-320.
11. Lehr HA, Folpe A, Yaziji H, Kommooss F, Gown AM. Cyto-keratin 8 immunostaining pattern and E-cadherin expression distinguish lobular from ductal breast carcinoma. Am J Clin Pathol 2000;114:190-196.
12. Jacobs TW, Pliss N, Kouria G, Schnitt SJ. Carcinomas *in situ* of the breast with indeterminate features: role of E-cadherin staining in categorization. Am J Surg Pathol 2001;25:229-236.
13. Conteras A, Saltar H. Lobular neoplasia of the breast. Arch Pathol Lab Med 2009;133:1116-1120.
14. Da Silva L, Parry S, Reid L. Aberrant expression of E-cadherin in lobular carcinomas of the breast. Am J Surg Pathol 2008;32:773-783.
15. Willebrand D, Bosman FT, de Goeij AF. Patterns of basement membrane deposition in benign and malignant breast tumors. Histopathology 1986;10:1231-1241.
16. Gimaraes N, Schenka AA, de Souza L, de Almeida M, Vasallo J. p63 and CD10: Reliable markers in discriminating benign sclerosing lesions from tubular carcinoma of the breast? Appl Immunohistochem Mol Morphol 2006;14:71-77.
17. Barbareschi M, Pecciarini L, Cangi MG, Macri E, et al. p63 a p53 homologue, is a selective nuclear marker of myoepithelial cells of the human breast. Am J Surg Pathol 2001;25:1054-1060.
18. Werling RW, Hwang H, Yaziji H, Gown AM. Immunohistochemical distinction of invasive from non invasive breast lesions. Am J Surg Pathol 2003;27:82-90.

19. Wang NP, Wan BC, Skelly M, Frid MG, et al. Antibodies to novel myoepithelium-associated proteins distinguish benign lesions and *in situ* carcinoma from invasive carcinoma of the breast. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 1997;5:141-151.
20. Kalof AN, Tam D, Beatty B, Cooper K. Immunostaining patterns of myoepithelial cells in breast lesions: a comparison of CD10 and smooth muscle myosin heavy chain. *J Clin Pathol* 2004;57:625-629.
21. Yaziji H, Sneige N, Gown AM. Comparative sensitivities and specificities of myoepithelial markers in the detection of stromal invasion in breast cancer. *Mod Pathol* 2000;13:50A.
22. Hilson JB, Schnitt SJ, Collins LC. Phenotypic alterations in myoepithelial cells associated with benign sclerosing lesions of the breast. *Am J Surg Pathol* 2010;34:896-900.
23. Arpino G, Bardou VJ, Clark GM, Elledge RM. Infiltrating lobular carcinoma of the breast: tumor characteristics and clinical outcome. *Breast Cancer Res Treat* 2004;6:149-156.
24. Nurismah MI, Noriah O, Suryati MY, Sharifah NA. E-cadherin expression correlates with histological type but not tumor grade in invasive breast cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008;9:699-702.
25. Dabbs DJ, Bhargava R, Chivukula M. Lobular versus ductal breast neoplasms: the diagnostic utility of p120 catenin. *Am J Surg Pathol* 2007;31:427-37.
26. Fadare O, Tavassoli FA. The phenotypic spectrum of basal-like breast cancer: A critical appraisal. *Adv Anat Pathol* 2007;14:358-373.
27. Seal MD, Chia SK. What is the difference between triple-negative and basal breast cancers? *Cancer J* 2010;16:12-16.
28. Bhargava R, Beriwal S, McManus K, Dabbs DJ. CK5 is more sensitive than CK5/6 in identifying the basal like phenotype of breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2008;130:724-730.
29. Bryan BB, Schnitt SJ, Collins LC. Ductal carcinoma *in situ* with basal-like phenotype: a possible precursor to invasive basal-like breast cancer. *Mod Pathol* 2006;19:617-621.
30. Dabbs DJ, Chivukula M, Carter G, Bhargava R. Basal phenotype of ductal carcinoma *in situ*: recognition and immunohistoologic profile. *Mod Pathol* 2006;19:1506-1511.
31. Rakha EA, Reis-Filo JS, Ellis IO. Basal-like breast cancer: A critical review. *J Clin Oncol* 2008;26:2568-2581.
32. Nassar H. Carcinomas with micropapillary morphology. *Adv Anat Pathol* 2004;11:297-303.
33. Li YS, Kaneko M, Sakamoto DG, Takeshima Y, Inai K. The reversed apical pattern of MUC1 expression is characteristic of invasive micropapillary carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res Treat* 2006;13:58-63.
34. Luna-More S, Gonzalez B, Acedo C, Rodrigo I, Luna C. Invasive micropapillary carcinoma of the breast: A new special type of invasive mammary carcinoma. *Pathol Res Pract* 1994;190:668-674.
35. Kuroda N, Sugimoto T, Takahashi T, Morik T, et al. Invasive micropapillary carcinoma of the breast: an immunohistochemical study of neoplastic and stromal cells. *Int J Surg Pathol* 2005;13:51-55.
36. Peterson F, Ivan D, Kasakov DV, Michal M, Prieto VG. Pigmented Paget disease: A diagnostic pitfall mimicking melanoma. *Am J Dermatopathol* 2009;31:223-226.
37. Perrotto J, Abbott JJ, Ceilley RI, Ahmed I. The role of immunohistochemistry in discriminating primary from second-
- ary extramammary Paget disease. *Am J Dermatopathol* 2010;32:137-143.
38. Liegl B, Leibl S, Gogg-Kamerer M, Tessaro B, et al. Mammary and extramammary Paget's disease: an immunohistochemical study of 83 cases. *Histopathology* 2007;50:439-447.
39. Fitzgibbons PL, Murphy DA, Hammond ME, Allred DC, Valenstein PN. Recommendations for validating estrogen and progesterone receptor immunohistochemistry assays. *Arch Pathol Lab Med* 2010;134:930-935.
40. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;16:2784-2795.
41. Allred DC, Bryant JL, Land S, et al. Estrogen receptor status as a predictor of the effectiveness of tamoxifen in CDIS: findings from NSABP Protocol B-24. *Mod Pathol* 2003;16:21A.
42. Nassar A, Radhakrishnan A, Cabrero IA, Cotsoins GA, Cohen C. Intratumoral heterogeneity of immunohistochemical marker expression in breast carcinoma. A tissue microarray-based study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2010 (in press).
43. Bruck P, Vilches N, Ramos E, Barboza O, Añcer J, Flores JP. Expresión del her2neu en el adenocarcinoma ductal de la glándula mamaria: correlación con parámetros histológicos y expresión de receptores estrogénicos en pacientes mexicanas. *Ginecol Obstet Mex* 2006;74:516-522.
44. Konency GE, Pauletti G, Pegram M. Quantitative association between HER-2/neu and steroid hormonereceptors in hormone receptor positive primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:142-153.
45. Konency GE, Thomassen C, Luck HJ, et al. HER2/neu gene amplification and response to paclitaxel in patients with metastatic breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:1141-1151.
46. Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D, Gutheil JC, et al. Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of Her2-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2002;17:719-726.
47. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, 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.
48. Keshgegian AA, Cnaan A. Proliferation markers in breast carcinoma. Mitotic figure count, S-phase fraction, proliferating cell nuclear antigen Ki-67 and MIB-1. *Am J Clin Pathol* 1995;104:42-49.
49. Taneja P, Maglic D, Kai F, Zhu S, et al. Classical and novel prognostic markers for breast cancer and their clinical significance. *Clin Med Insights Oncol* 2010;4:15-34.
50. Olivier M, Langerod A, Carrieri P, et al. The clinical value of somatic TP53 gene mutations in 1,749 patients with breast cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12:1157-1167.
51. Badve S, Turbin D, Thorat MA, et al. FOXA1 expression in breast cancer. Correlation with luminal subtype A and survival. *Clin Cancer Res* 2007;13:4415-4421.
52. Bhargava R, Beriwal S, Dabbs DJ. Mammaglobin versus GCDFP-15: an immunohistologic validation survey for sensitivity and specificity. *Am J Clin Pathol* 2007;127:103-113.
53. Kahn HJ, Marks A. A new monoclonal antibody, D2-40 for detection of lymphatic invasion in primary tumors. *Lab Invest* 2002;82:1255-1257.