

CURSO CORTO DE PATOLOGÍA MAMARIA: NUEVOS FENOTIPOS  
DEL CÁNCER DE MAMA: ¿NUEVOS PROBLEMAS PARA EL  
PATÓLOGO?

**¿Puede distinguir el patólogo los  
fenotipos luminal A y B del  
cáncer de mama?**

Dr. F. Ignacio Aranda  
S. de Patología. Hospital General Universitario de Alicante

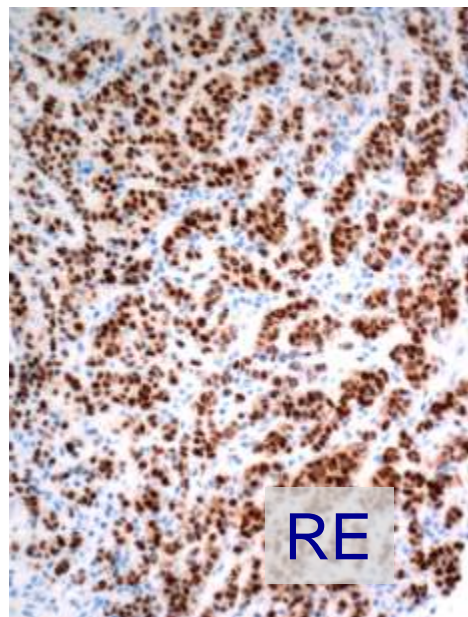
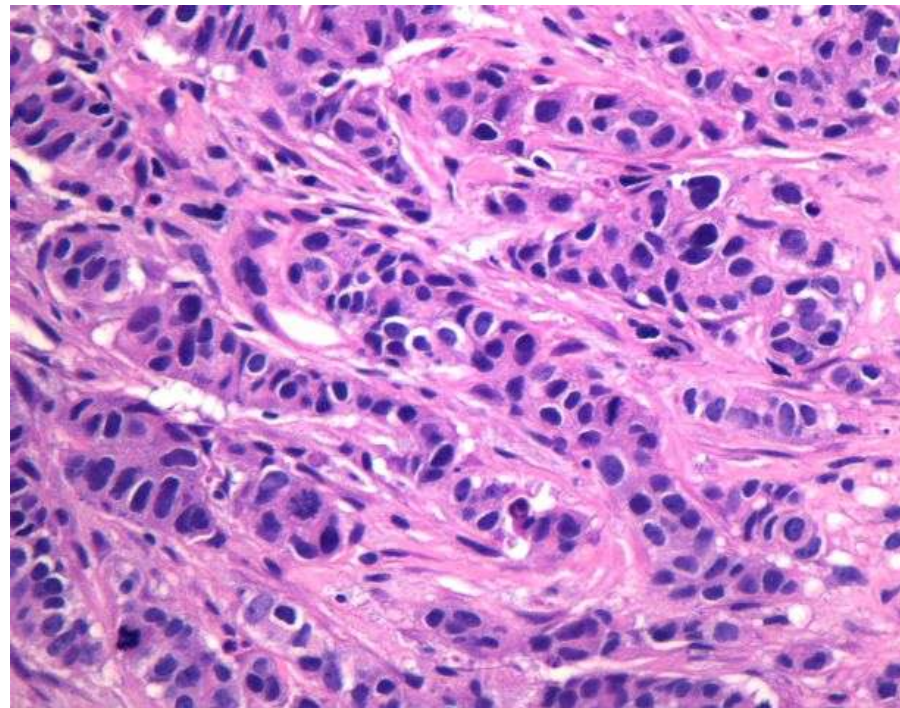
# Guión

- Concepto y significado de fenotipo luminal
- Antecedentes del concepto en patología
- Inmunohistoquímica y problemas: RE/RPg, Her-2, Ki67, p53
- Correlación patología/fenotipo molecular luminal
- Implicaciones pronósticas y terapéuticas
- Herramientas moleculares de uso diagnóstico
- Papel del patólogo en la integración de la información

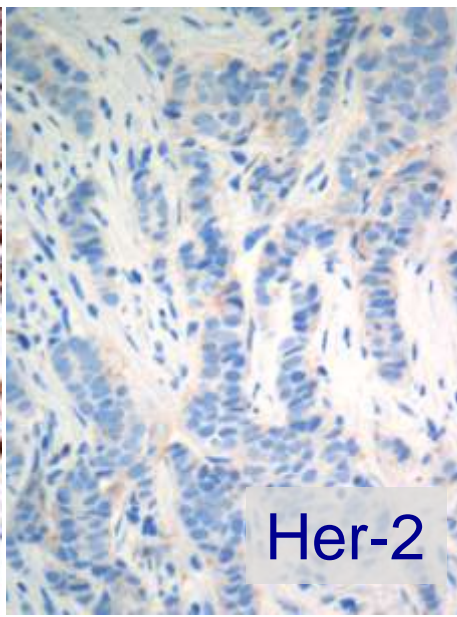
Im: 130  
S: 8.8

R  
1  
9  
6

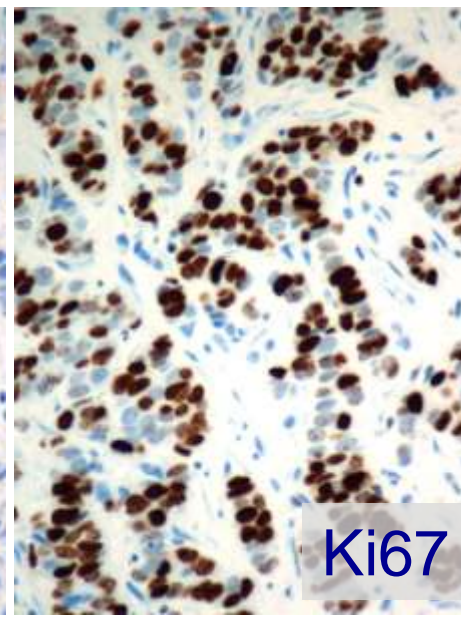
150.0/2.0sp MIP  
DEOV 39.0cm



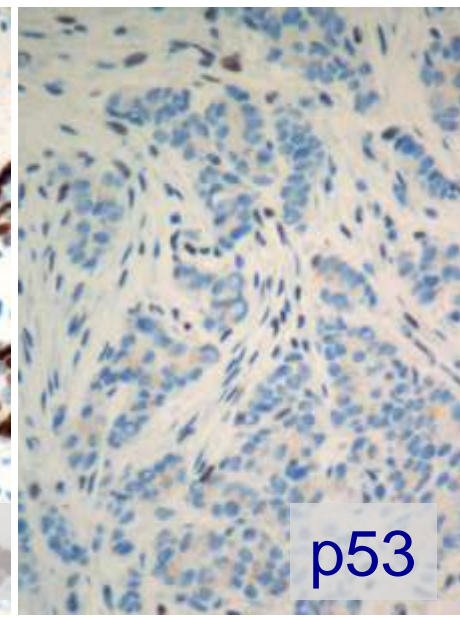
RE



Her-2



Ki67



p53

(Mama derecha, BAG 14G)  
Carcinoma ductal infiltrante  
Grado histológico: 3 (3-3-2)

RE 8/8, positivo

RP 7/8, positivo

Her-2, negativo

Ki67 40%, alto

p53, negativa

PAAF GL: negativa

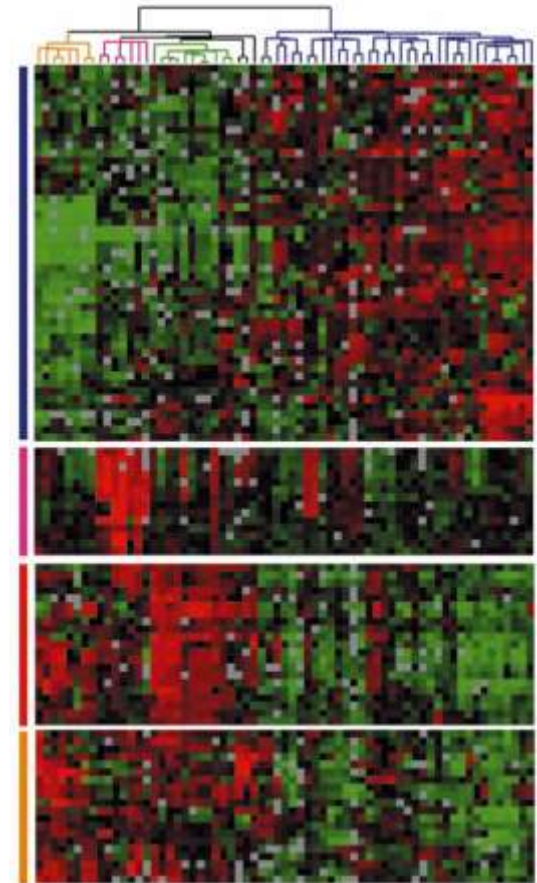
Estadio T3N0M0

- ¿Podemos llamar a este tumor luminal B?
- ¿qué papel juega la IHQ adicional en la decisión pronóstica y terapéutica?
- ¿qué tratamiento adyuvante estaría indicado?
- ¿Es necesaria la aplicación de alguna técnica molecular para confirmar el pronóstico y/o el tratamiento?
- ¿Puede ser tratada con neoadyuvancia?

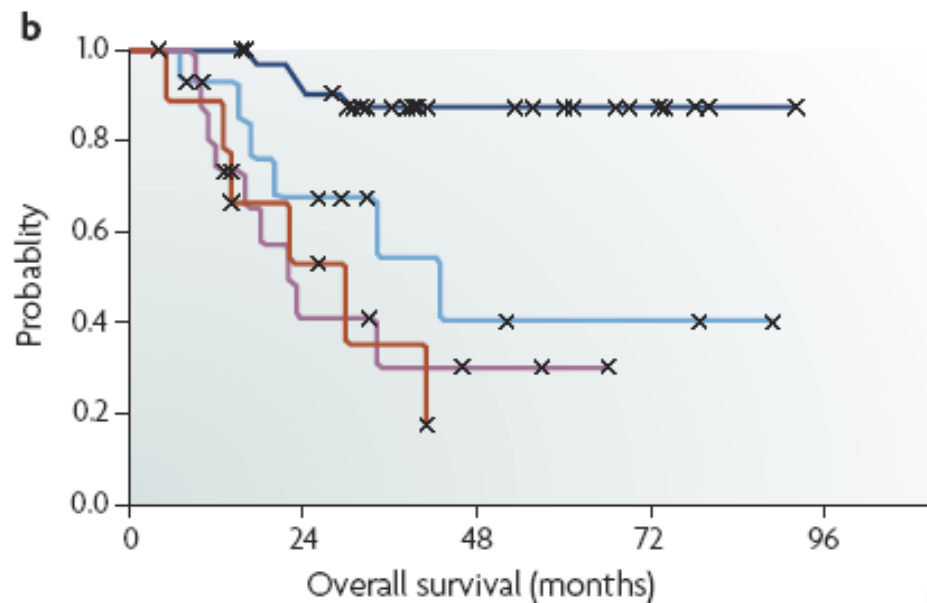
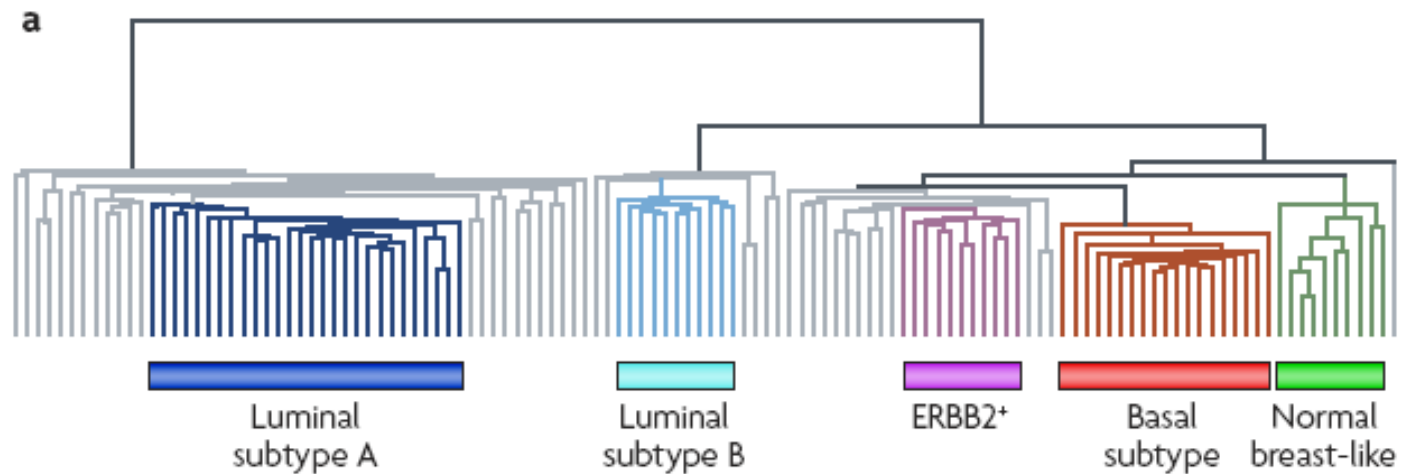
# Clasificación molecular del cáncer de mama

*Perou et al. Nature 2000; 406: 747-52*

- Análisis de cDNA, micromatrices, agrupamiento jerárquico
- Tumores y tejido mamario:
  - 38 carcinomas infiltrantes (2 lobulillares)
  - 1 carcinoma in situ
  - 1 fibroadenoma
  - 3 tejido mamario normal
- Cuatro grupos: luminal, Her-2, Basal-like y “mama normal”

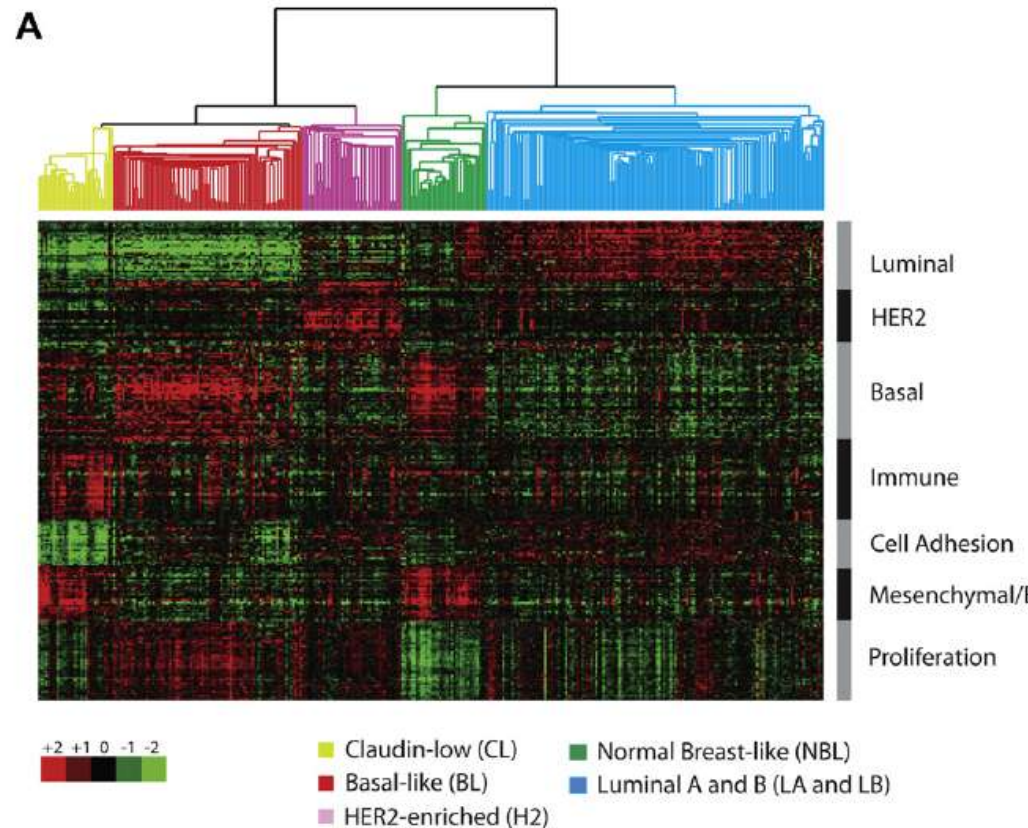


# Cáncer de mama: clasificación molecular (Perou et al, Nature 2000)



# Grupo luminal

- Expresión de genes relacionados con el RE
- Subclasificados en dos grupos (A y B) dependiendo de la expresión de genes relacionados con la proliferación





# Problemas de la “histopatología”

- Método subjetivo
- Problemas de reproductibilidad
- Numerosos tipos histológicos
- Metodología inmunohistoquímica poco fiable
- “Predicción similar a los rituales tribales”
- Las técnicas moleculares son el “gold estándar”, el futuro...





# Clasificación molecular

## Limitaciones

- Análisis de agrupamiento jerárquico, de difícil aplicación en casos aislados, prospectivos
- La identificación del subtipo es dependiente de la tecnología empleada
- Acuerdo entre diferentes métodos moderado ( $\kappa = 0,5$ )
- Diferencias basadas en la expresión de genes relacionados con la proliferación.
- Correlación limitada con los métodos aceptados (inmunohistoquímica, FISH)



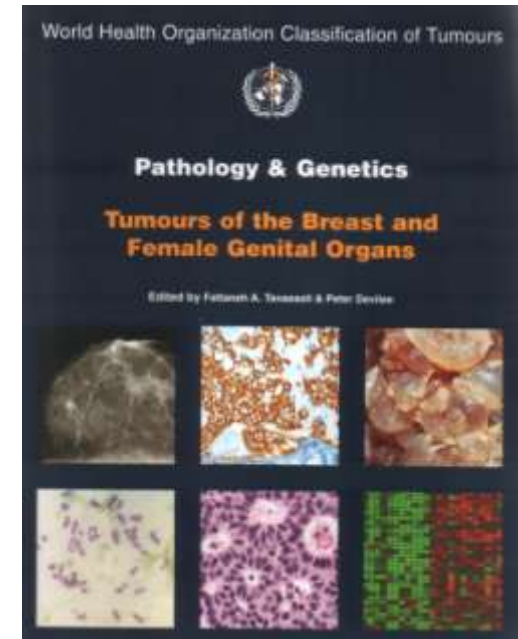
# Clasificación molecular. Correlaciones

	Prevalen. (%)	Cluster prolifer	Grado 3 (%)	RE + (%)	RP + (%)	Her-2 + (%)	TN (%)	Mut p53
<b>Luminal A</b>	28-31	Bajo	13-30	91-100	70-74	8-11	3-4	baja
<b>Luminal B</b>	19-23	Alto	41-62	91-100	41-53	15-24	4-9	int.
<b>Her-2 enriq.</b>	12-21	Alto	55-89	29-59	25-30	66-71	14-22	alta
<b>Basal</b>	11-23	Alto	88-93	0-19	6-13	9-13	73-80	alta

*Prat A & Perou CM. Mol Oncol 2011; 5: 5-23*

# Bases morfológicas

- Clasificación histológica (años 80)
- Grado histológico (Nottingham, 1991)
- Receptores de estradiol (IHQ, años 90)
- Factores pronósticos negativos (Her-2, p53, actividad proliferativa, expresión de CKs basales)



# American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer (Unabridged Version)

*M. Elizabeth H. Hammond; Daniel F. Hayes; Mitch Dowsett; D. Craig Allred; Karen L. Hagerty; Sunil Badve; Patrick L. Fitzgibbons; Glenn Francis; Neil S. Goldstein; Malcolm Hayes; David G. Hicks; Susan Lester; Richard Love; Pamela B. Mangu; Lisa McShane; Keith Miller; C. Kent Osborne; Soonmyung Paik; Jane Perlmutter; Anthony Rhodes; Hironobu Sasano; Jared N. Schwartz; Fred C. G. Sweep; Sheila Taube; Emina Emilia Torlakovic; Paul Valenstein; Giuseppe Viale; Daniel Visscher; Thomas Wheeler; R. Bruce Williams; James L. Wittliff; Antonio C. Wolff*

• **Purpose.**—To develop a guideline to improve the accuracy of immunohistochemical (IHC) estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PgR) testing in breast cancer and the utility of these receptors as predictive markers.

**Methods.**—The American Society of Clinical Oncology and the College of American Pathologists convened an international Expert Panel that conducted a systematic review and evaluation of the literature in partnership with Cancer Care Ontario and developed recommendations for optimal IHC ER/PgR testing performance.

**Results.**—Up to 20% of current IHC determinations of ER and PgR testing worldwide may be inaccurate (false negative or false positive). Most of the issues with testing have occurred because of variation in pre-analytic

variables, thresholds for positivity, and interpretation criteria.

**Recommendations.**—The Panel recommends that ER and PgR status be determined on all invasive breast cancers and breast cancer recurrences. A testing algorithm that relies on accurate, reproducible assay performance is proposed. Elements to reliably reduce assay variation are specified. It is recommended that ER and PgR assays be considered positive if there are at least 1% positive tumor nuclei in the sample on testing in the presence of expected reactivity of internal (normal epithelial elements) and external controls. The absence of benefit from endocrine therapy for women with ER-negative invasive breast cancers has been confirmed in large overviews of randomized clinical trials.

*(Arch Pathol Lab Med. 2010;134:e48-e72)*

VOLUME 28 • NUMBER 16 • JUNE 1 2010

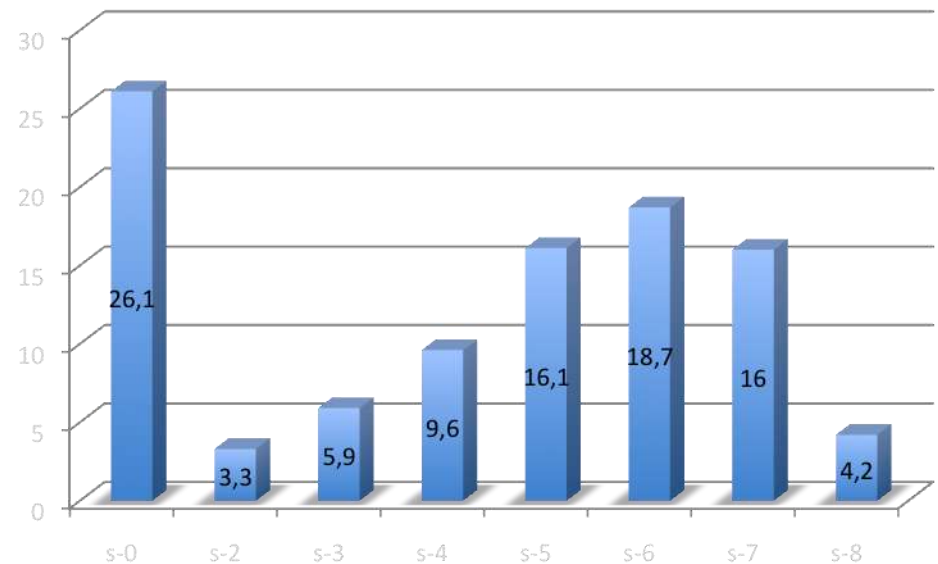
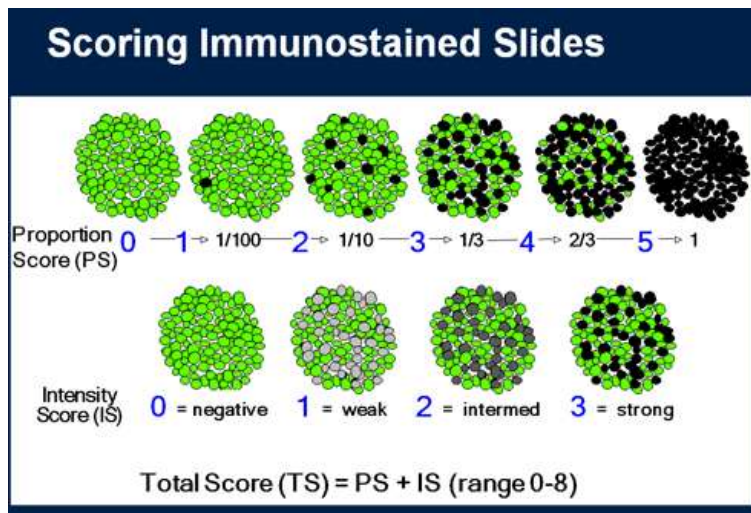
JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY

ASCO SPECIAL ARTICLE

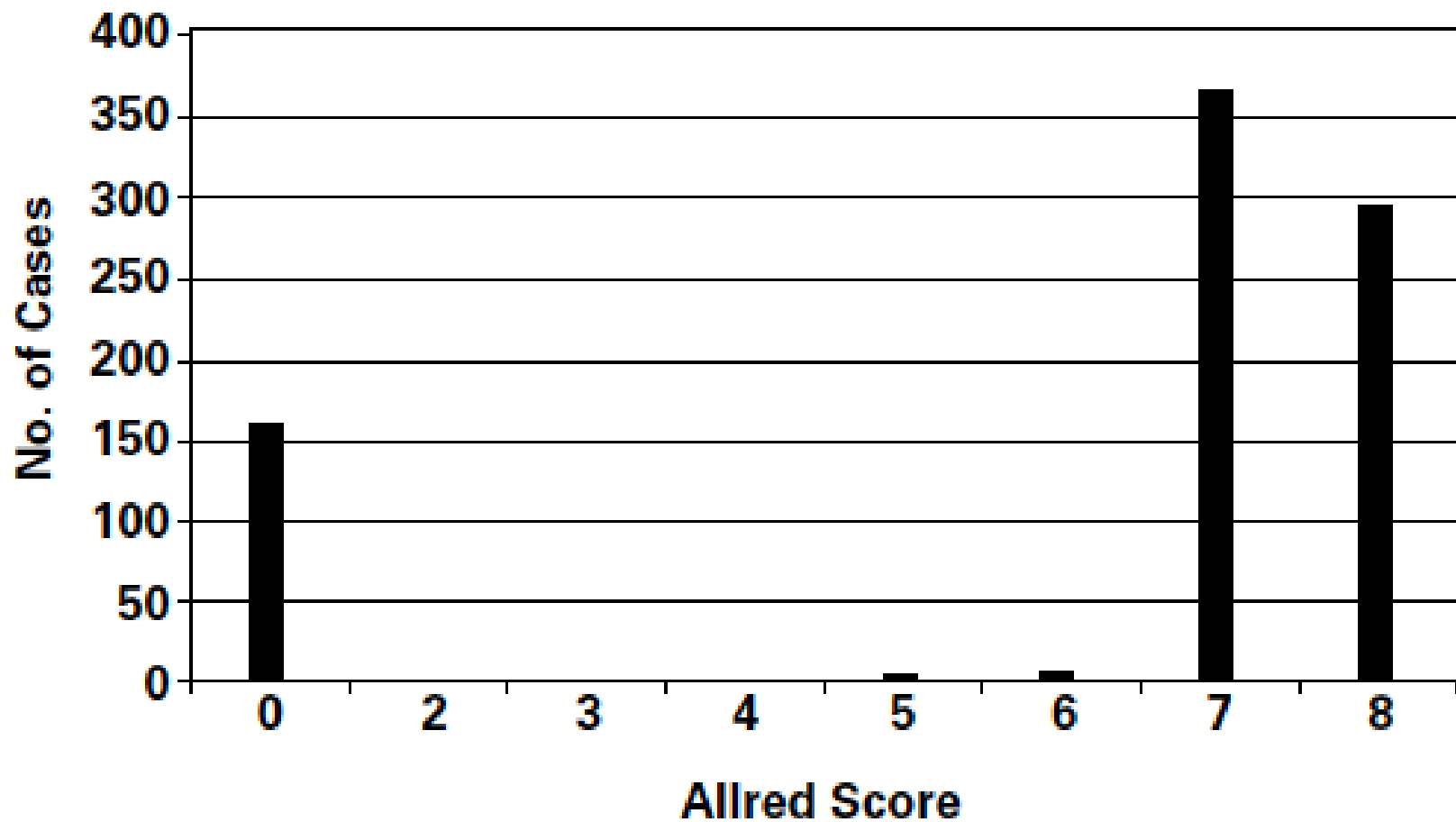
## American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer

*M. Elizabeth H. Hammond, Daniel F. Hayes, Mitch Dowsett, D. Craig Allred, Karen L. Hagerty, Sunil Badve, Patrick L. Fitzgibbons, Glenn Francis, Neil S. Goldstein, Malcolm Hayes, David G. Hicks, Susan Lester, Richard Love, Pamela B. Mangu, Lisa McShane, Keith Miller, C. Kent Osborne, Soonmyung Paik, Jane Perlmutter, Anthony Rhodes, Hironobu Sasano, Jared N. Schwartz, Fred C.G. Sweep, Sheila Taube, Emina Emilia Torlakovic, Paul Valenstein, Giuseppe Viale, Daniel Visscher, Thomas Wheeler, R. Bruce Williams, James L. Wittliff, and Antonio C. Wolff*

# Evaluation of ER and PgR using Allred score system



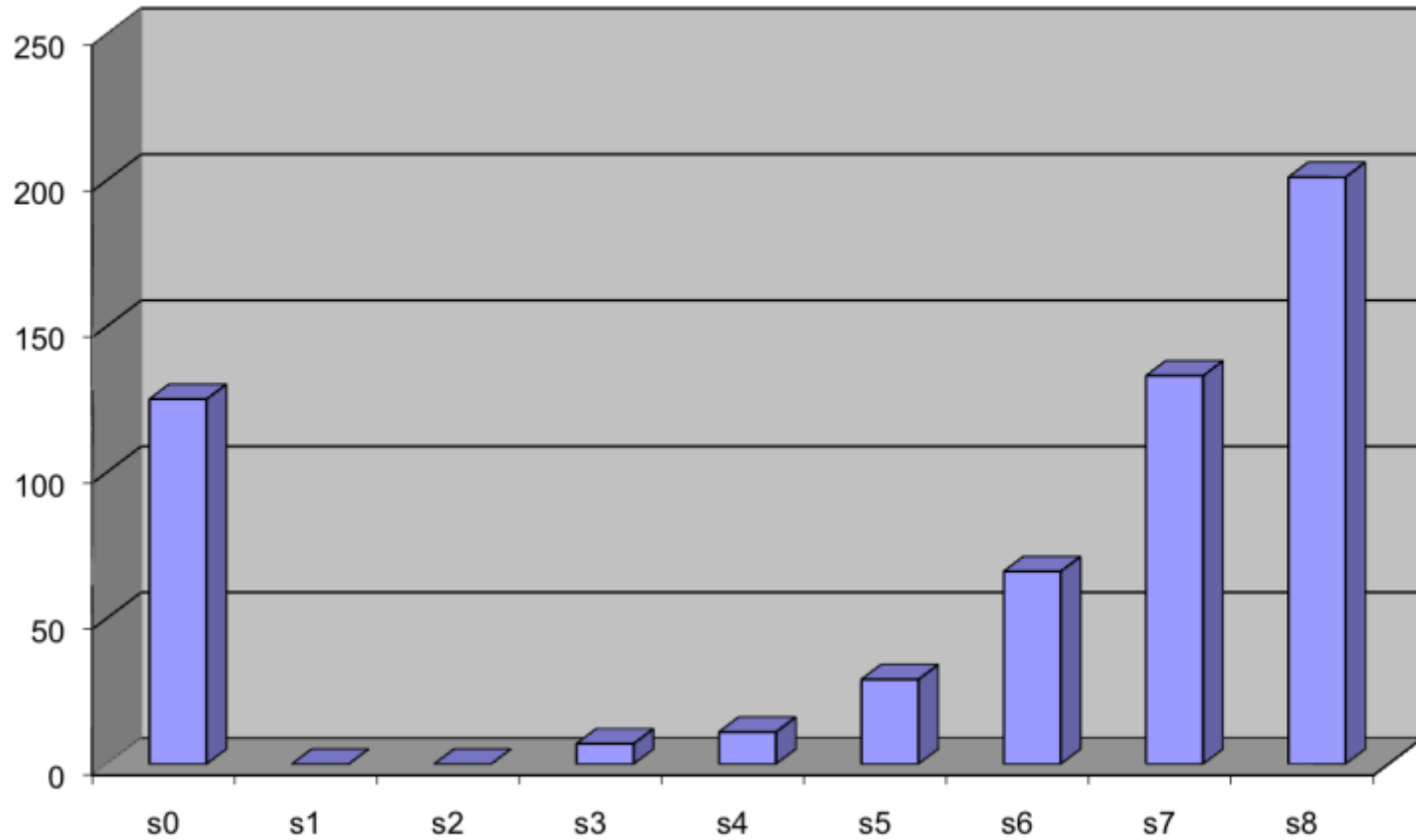
*Allred DC, Harvey JM, Berardo M, et al.  
Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis.  
Mod Pathol. 1998;11:155-168.*



*Collins L, et al. AJCP 2005; 123: 16-20*



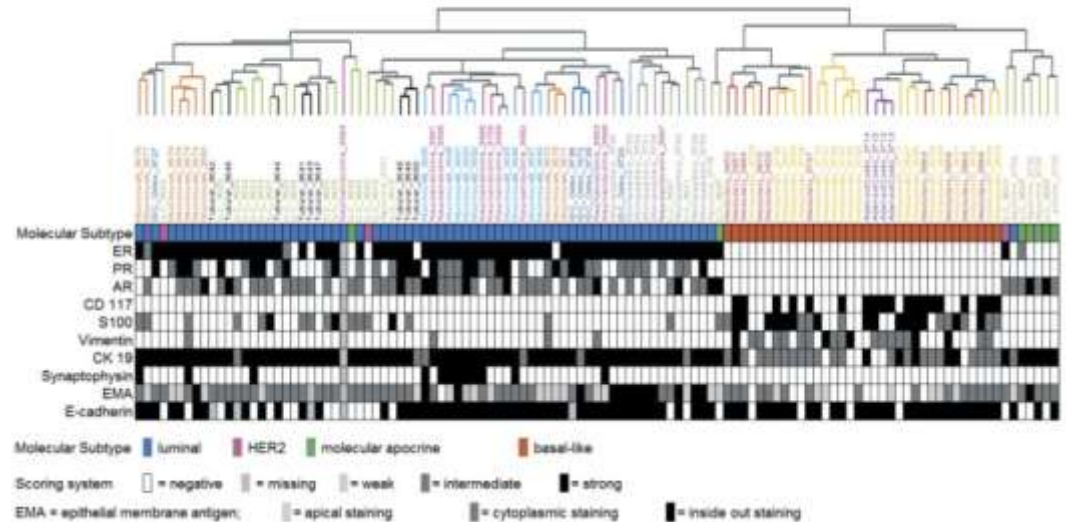
**Allred in 572 cases (GEICAM 9906)**



*Hospital Gral Universitario de Alicante, 2009-2010*

# Enfermedad RE positiva y tipos histológicos

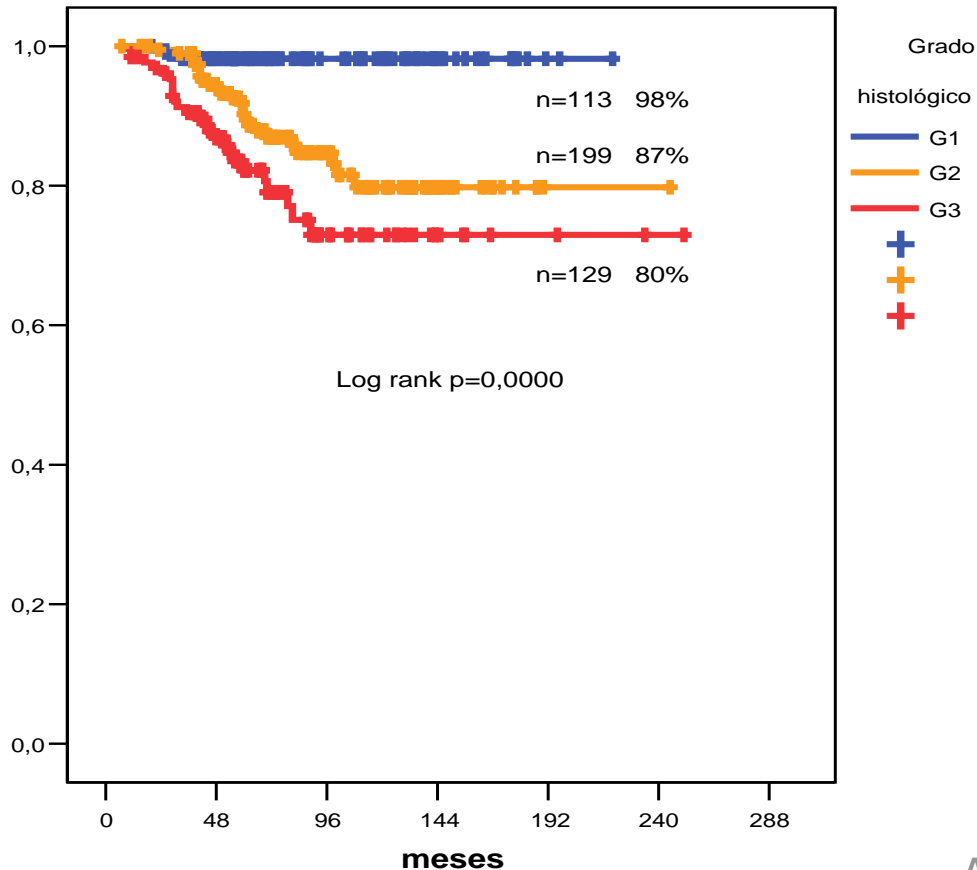
- Ductal NOS, grado 1-3
- Tubular/cribiforme
- Lobulillar infiltrante clásico
- Mucinoso
- Neuroendocrino
- Micropapilar
- Apocrino



*Weigelt B, et al. J Pathol 2008; 216: 141-50*

# Grado histológico y carcinoma infiltrante RH+/Her-2 - HGUA n=441, mediana de seguimiento: 68 meses

**SV global**

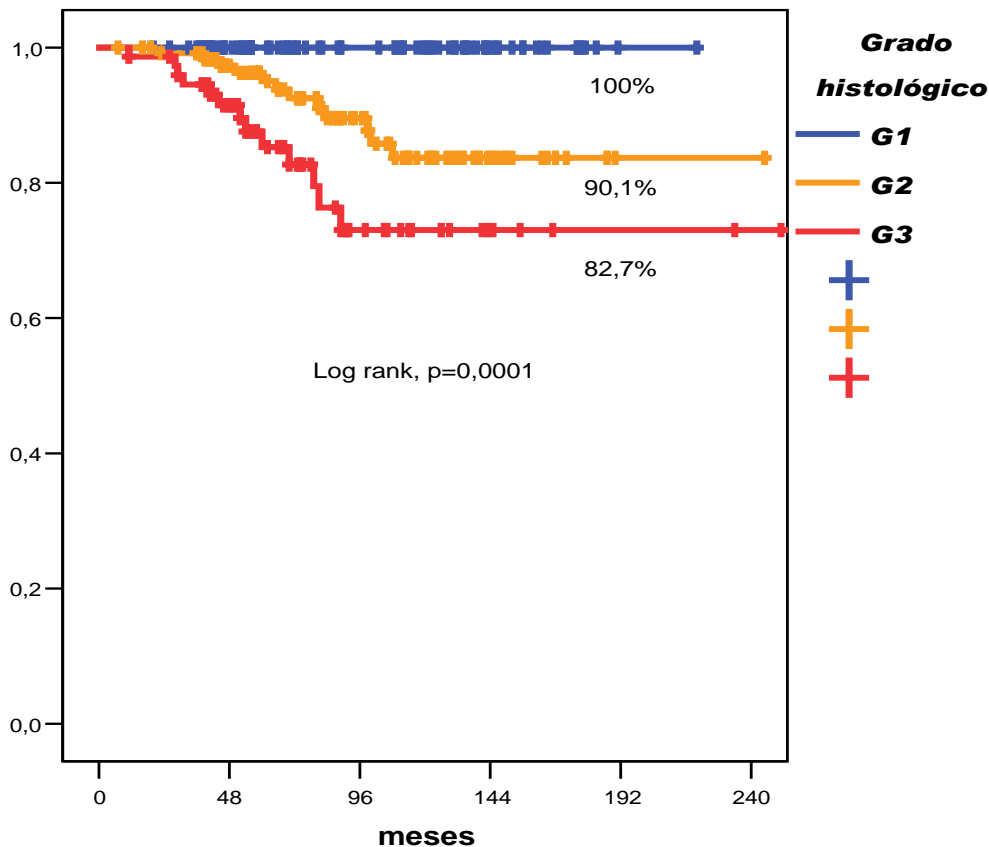


Grado	n	%
G1	113	25,6
G2	199	45,1
G3	129	29,3

# Grado y carcinoma infiltrante RH+/Her-2 – (N0)

HGUA n=285, mediana de seguimiento: 68 meses

SV global



Grado	n	%
G1	88	30,1
G2	122	42,8
G3	75	26,3

¿Podemos reproducir los tipos  
moleculares intrínsecos con  
inmunohistoquímica?

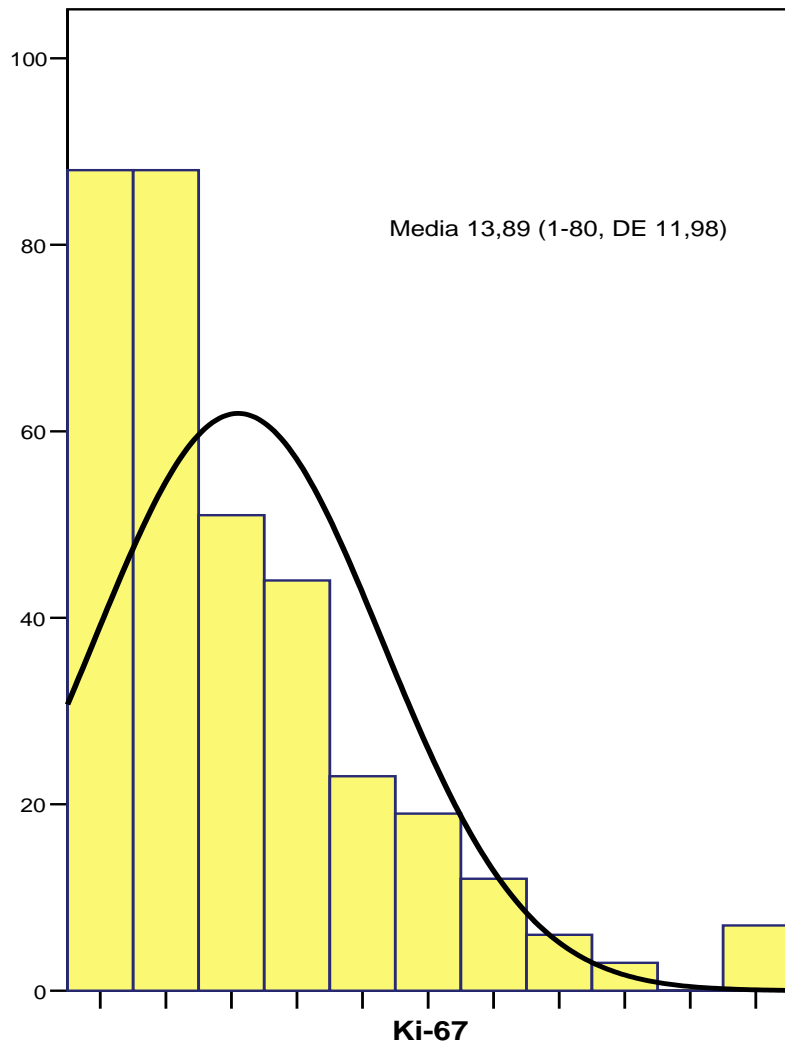
Genes discriminantes relacionados con la  
proliferación celular

¿Información similar a la obtenida con Ki-67?

# Ki-67: Problemática

- Marcador de proliferación (años 70)
- Años 90, Ac aplicable en tejido fijado e incluido en parafina
- Procedimiento no normalizado. Problemas de reproductibilidad
- Factor pronóstico, predictivo
- Guía disponible para 2011

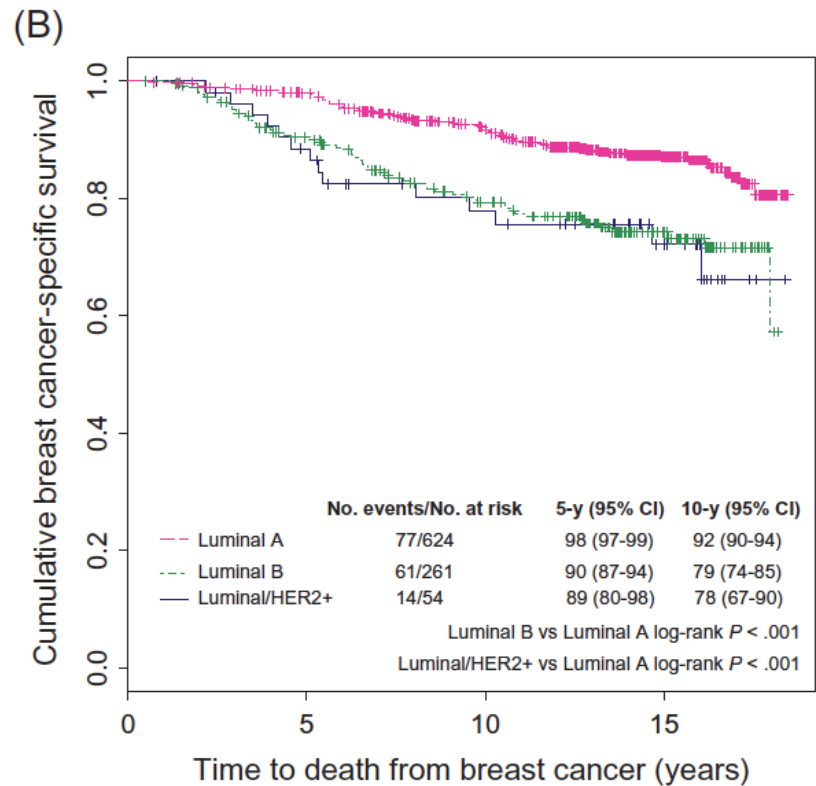
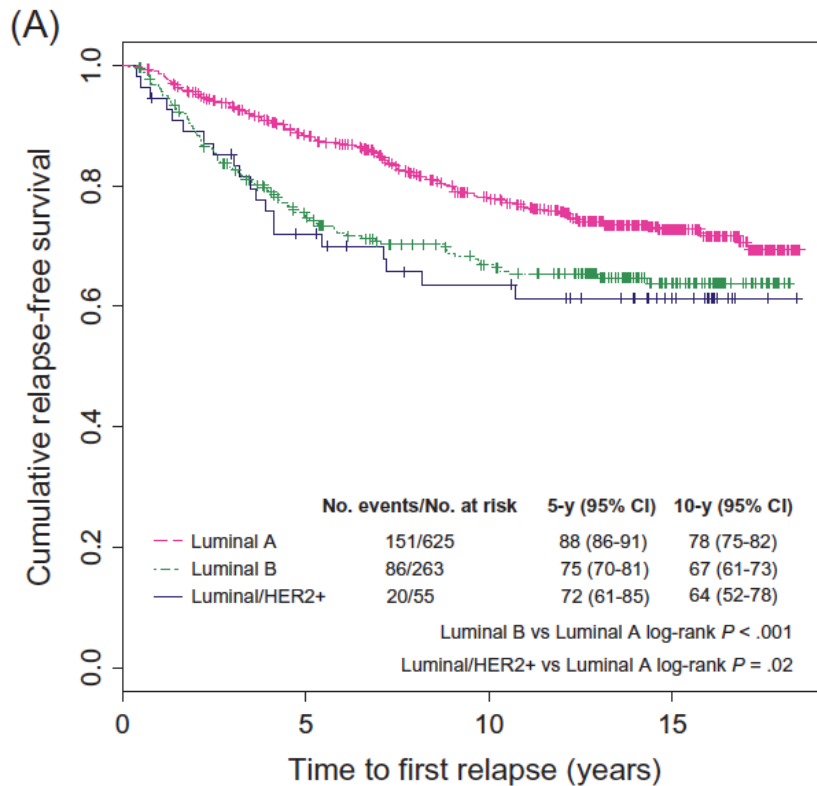
# Ki-67 en carcinoma infiltrante RH positivo/Her2 -, N0 n=341 (HGUA)



Ki-67%	n	%
0-5	88	26
6-10	88	26
11-15	51	15
16-20	44	13
21-25	23	7
26-30	19	6
31-40	12	3
41-50	6	2
>50	10	3



# Clasificación del luminal (RH+) basada en Ki67 y Her-2

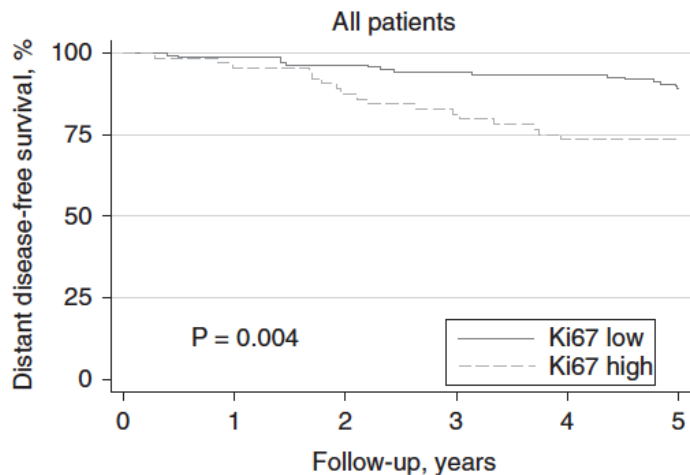


n=943 pac.

N0, RH+, sin adyuvancia

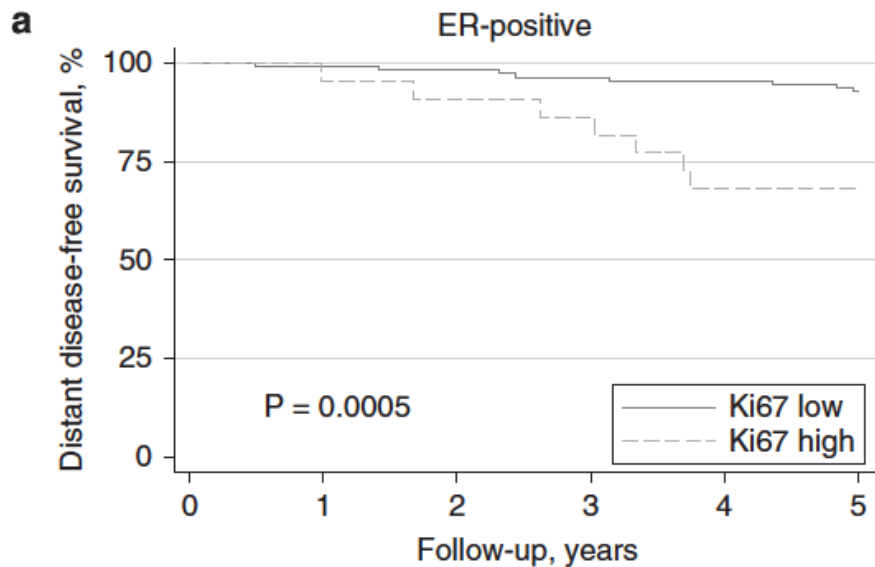
Ki67 corte 13,25%

L-A 66%/L-B 28%/L-Her2 6%



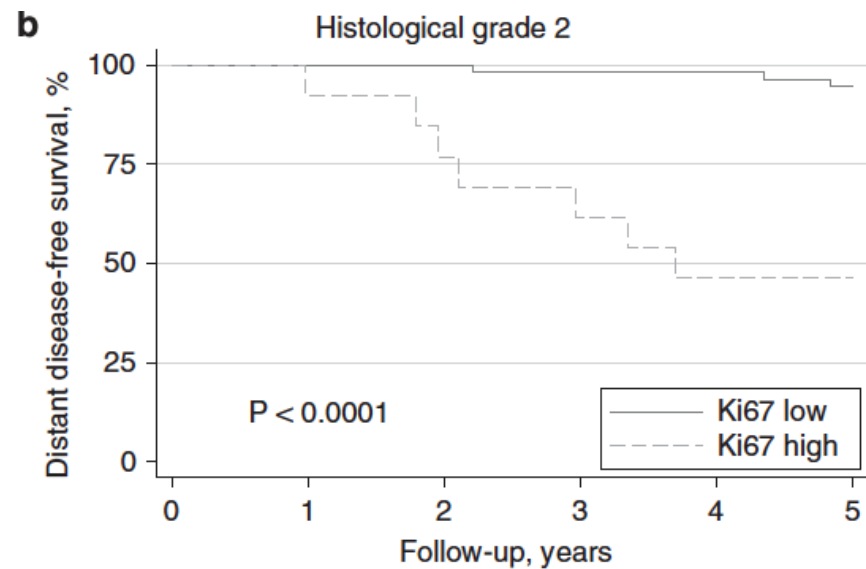
Numbers at risk

Ki67 low	136	134	131	128	127	121
Ki67 high	64	61	56	52	47	47



Numbers at risk

Ki67 low	110	109	108	106	105	102
Ki67 high	22	21	20	19	15	15

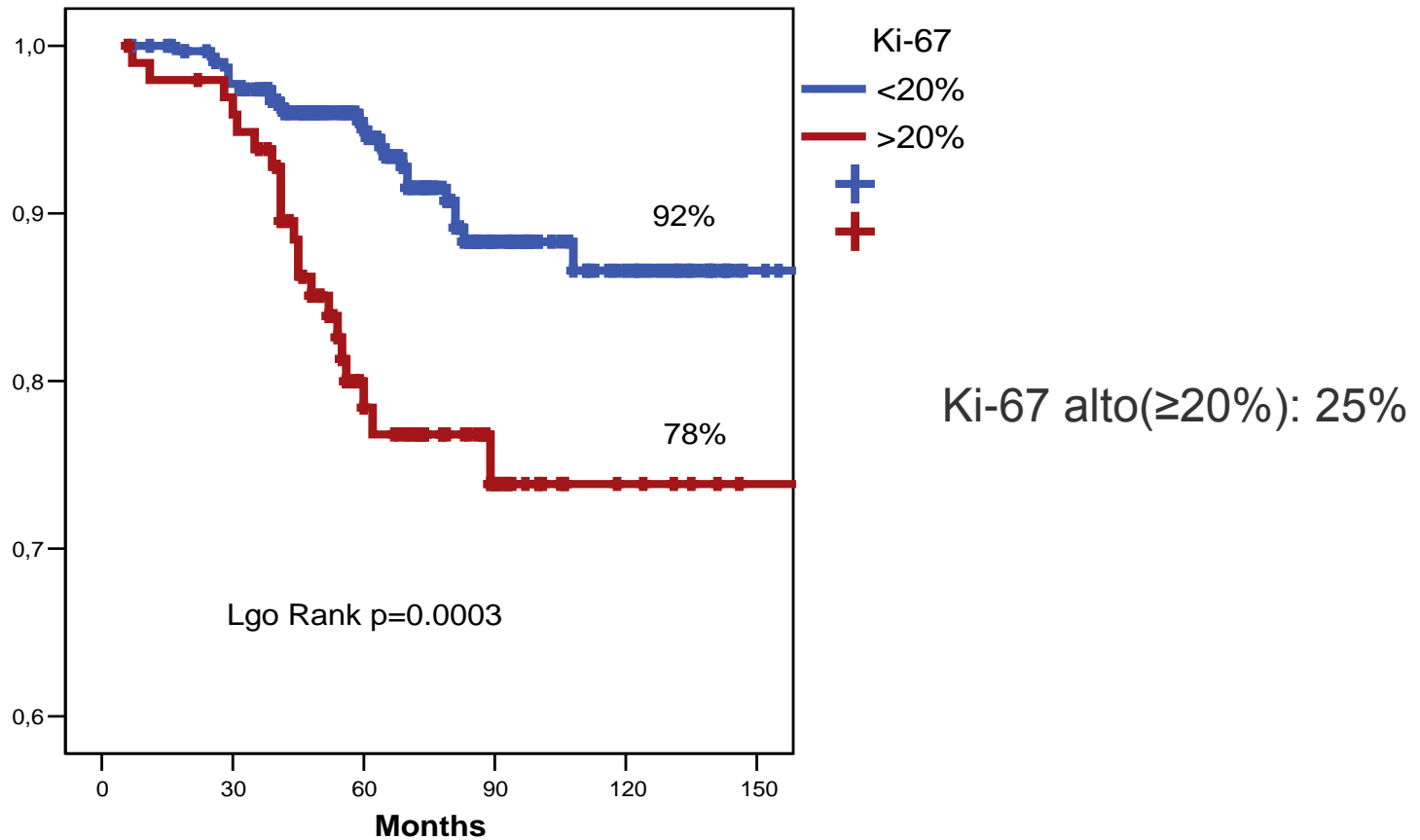


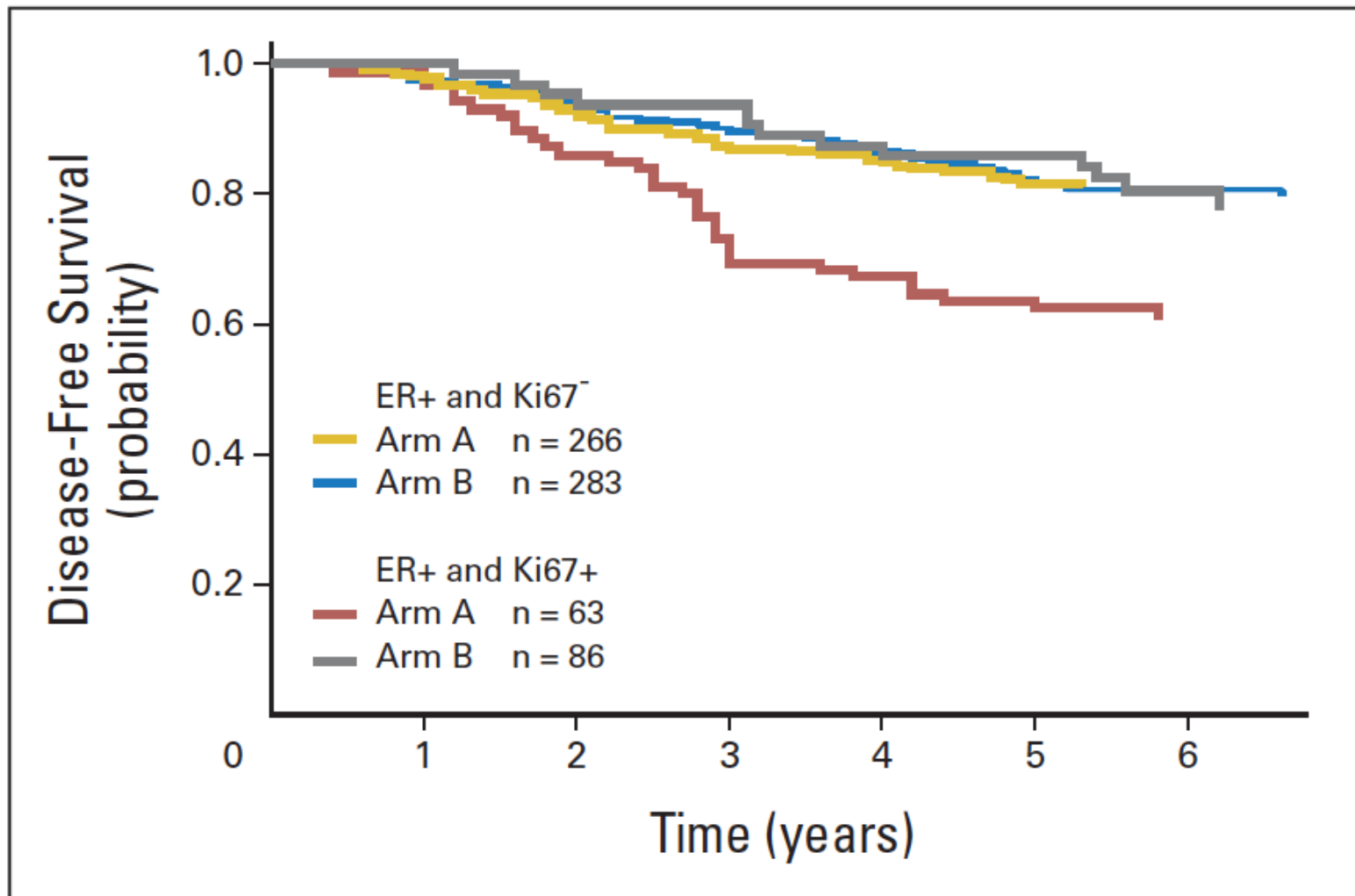
Numbers at risk

Ki67 low	56	56	56	55	55	53
Ki67 high	13	12	10	8	6	6

# Fenotipo RE +/-Her-2 -: Ki-67 y SV

## Overall Survival





**Fig 3.** Disease-free survival (DFS) according to treatment and Ki67 expression in patients with estrogen receptor (ER) –positive tumors. Arm A, fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide (FEC) arm; arm B, sequential FEC followed by docetaxel arm.

# Ki-67. Puntos a destacar

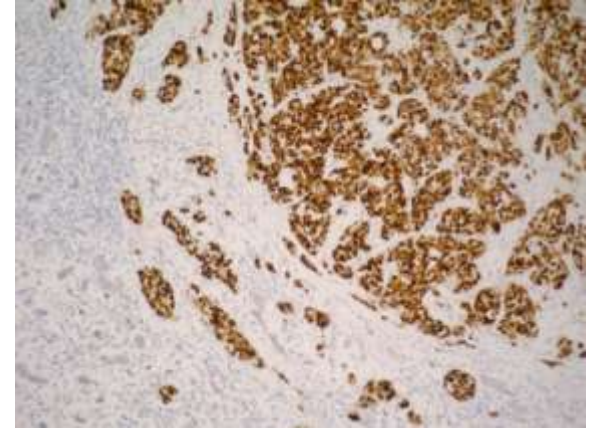
Ki-67 es un factor pronóstico en el CI de mama RH positivo (nivel de evidencia 3)

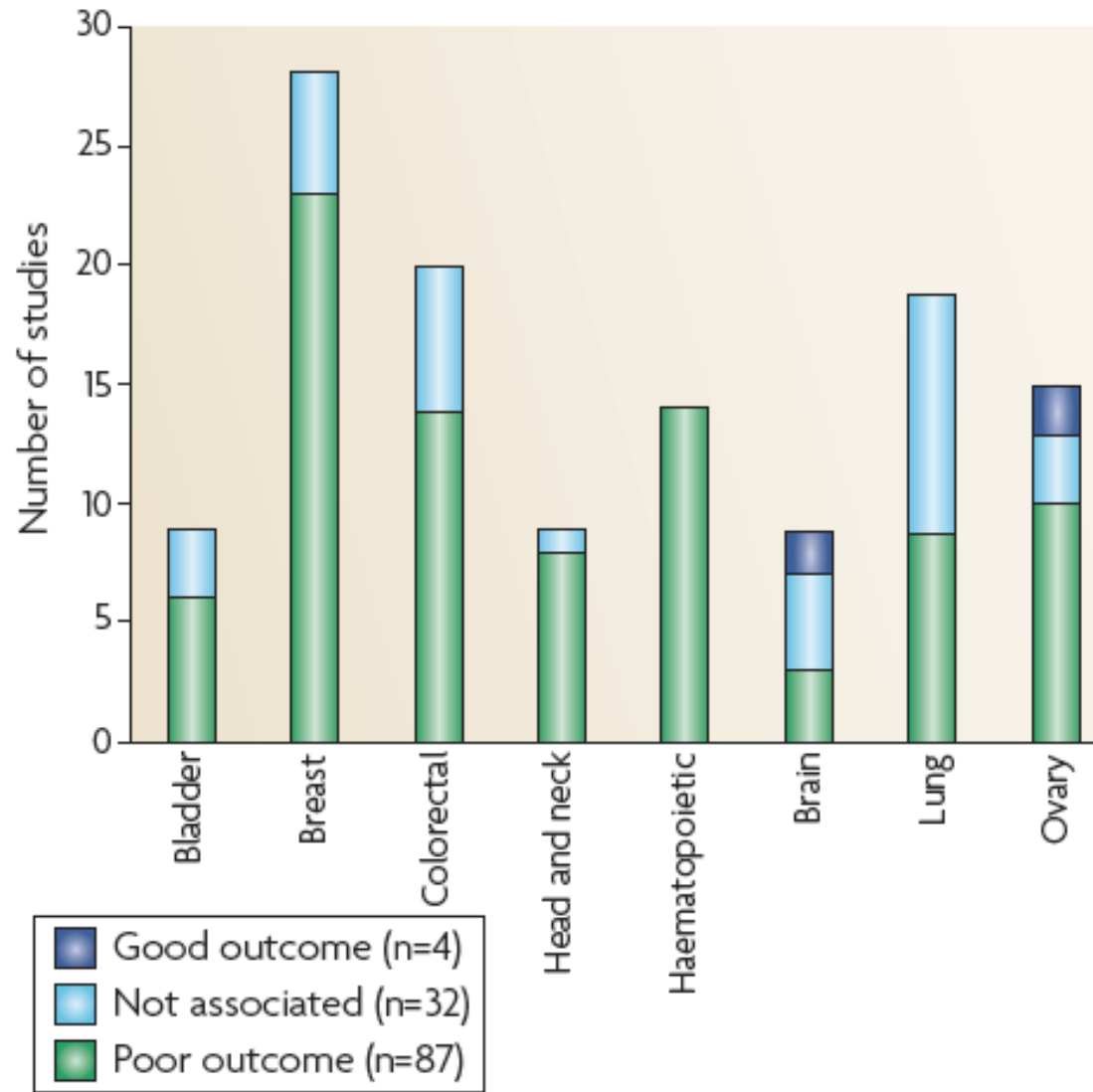
Ki-67 es un factor predictivo de respuesta a QT (antraciclinas)

No existen recomendaciones/guías normalizadas para su evaluación IHQ (2011)

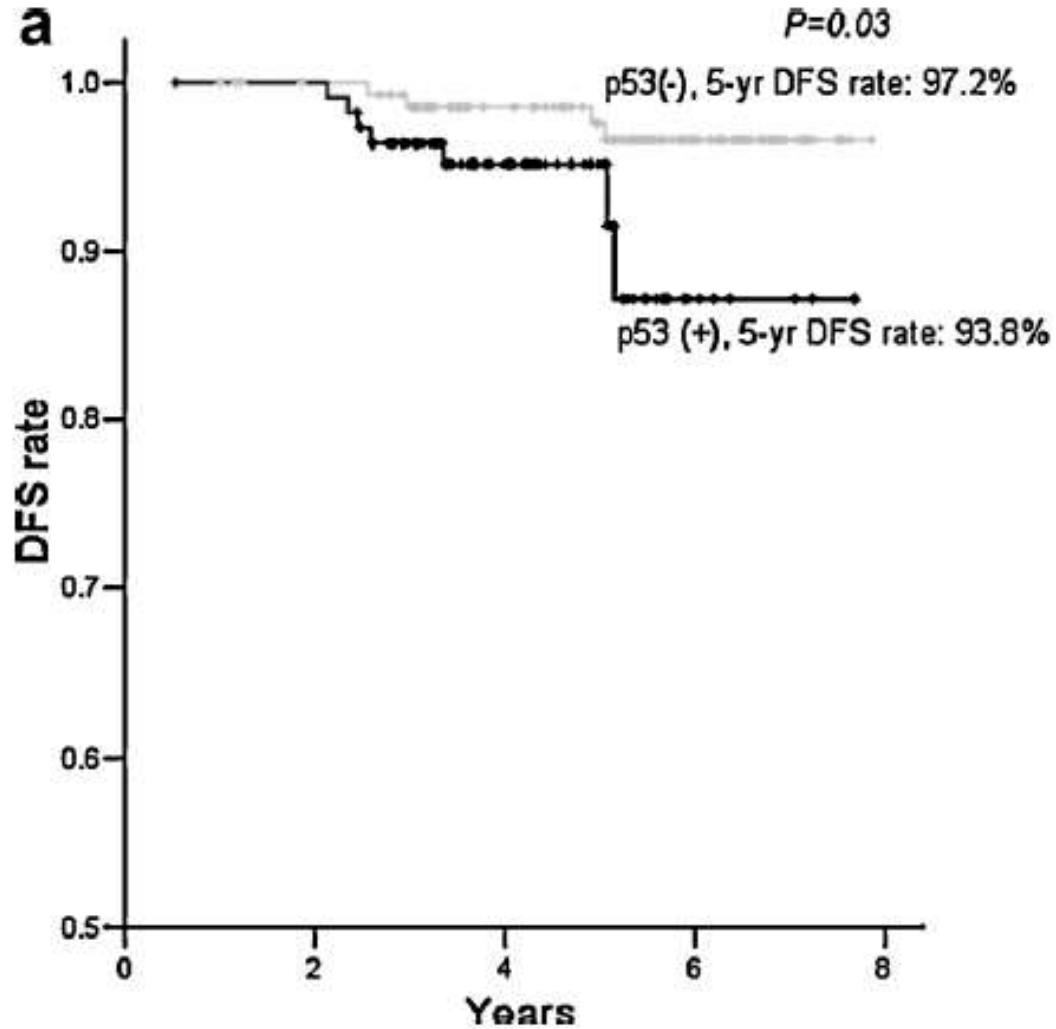
# P53: limitaciones

- No todos los casos con mutación presentan sobreexpresión de la proteína
- No todas las mutaciones tienen las mismas implicaciones
- No siempre la sobreexpresión es indicativo de mutación
- Problemas derivados de la técnica, puntos de corte (5, 10, 20, 40%)





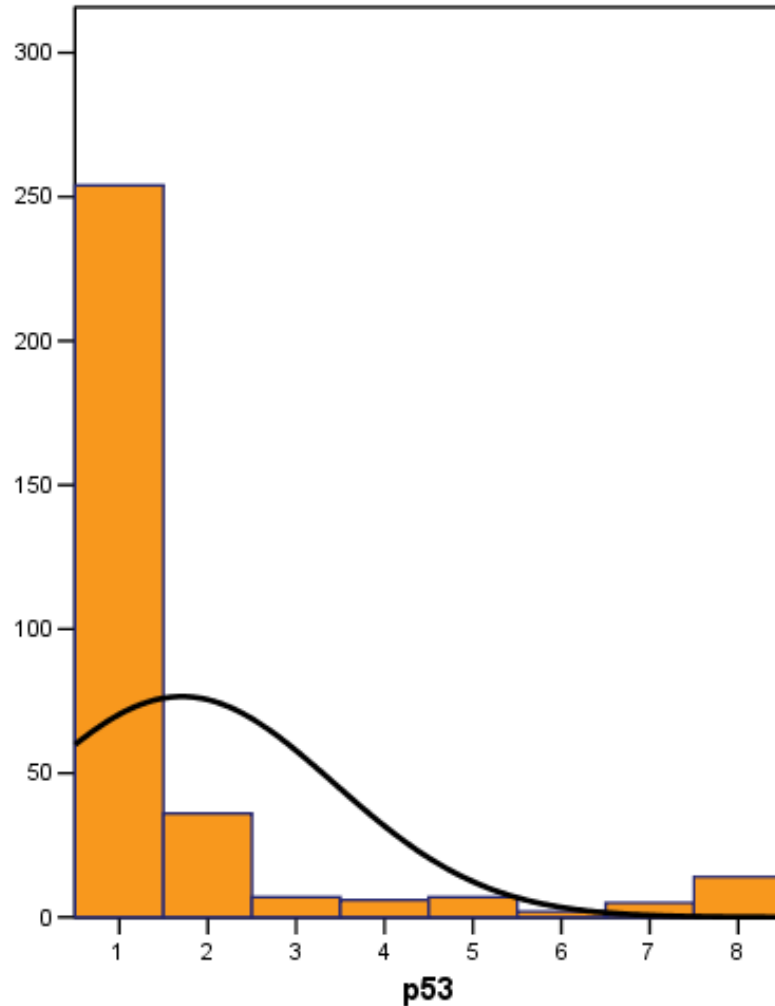
# P53 en luminal A



RH+/Her-2 –  
n=257  
P53- 56%  
P53+ 44%  
Corte 10%



# P53 en carcinoma infiltrante RH positivo/Her2 -, N0 n=331 (HGUA)

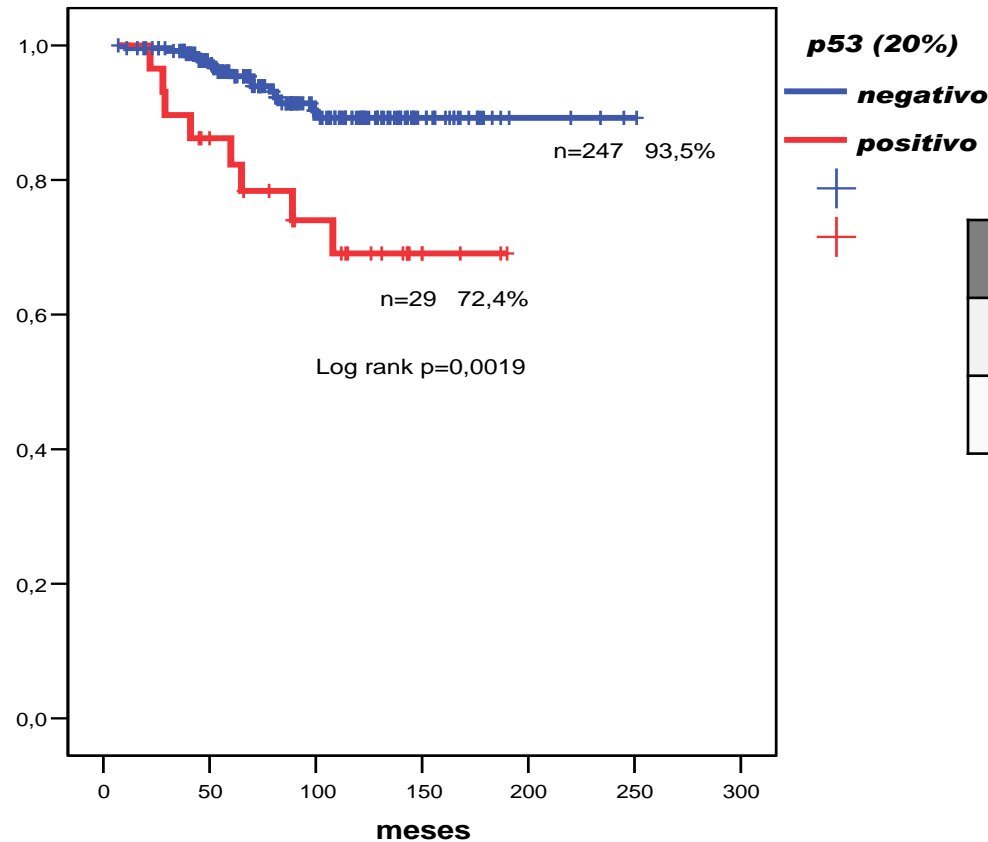


% p53	n	%
0-9	254	77
10-19	36	11
20-29	7	2
30-39	6	2
40-49	7	2
50-59	2	0,5
>59	23	6

# p53 y carcinoma infiltrante RH+/Her-2 (N0)

HGUA n=276, mediana de seguimiento: 68 meses

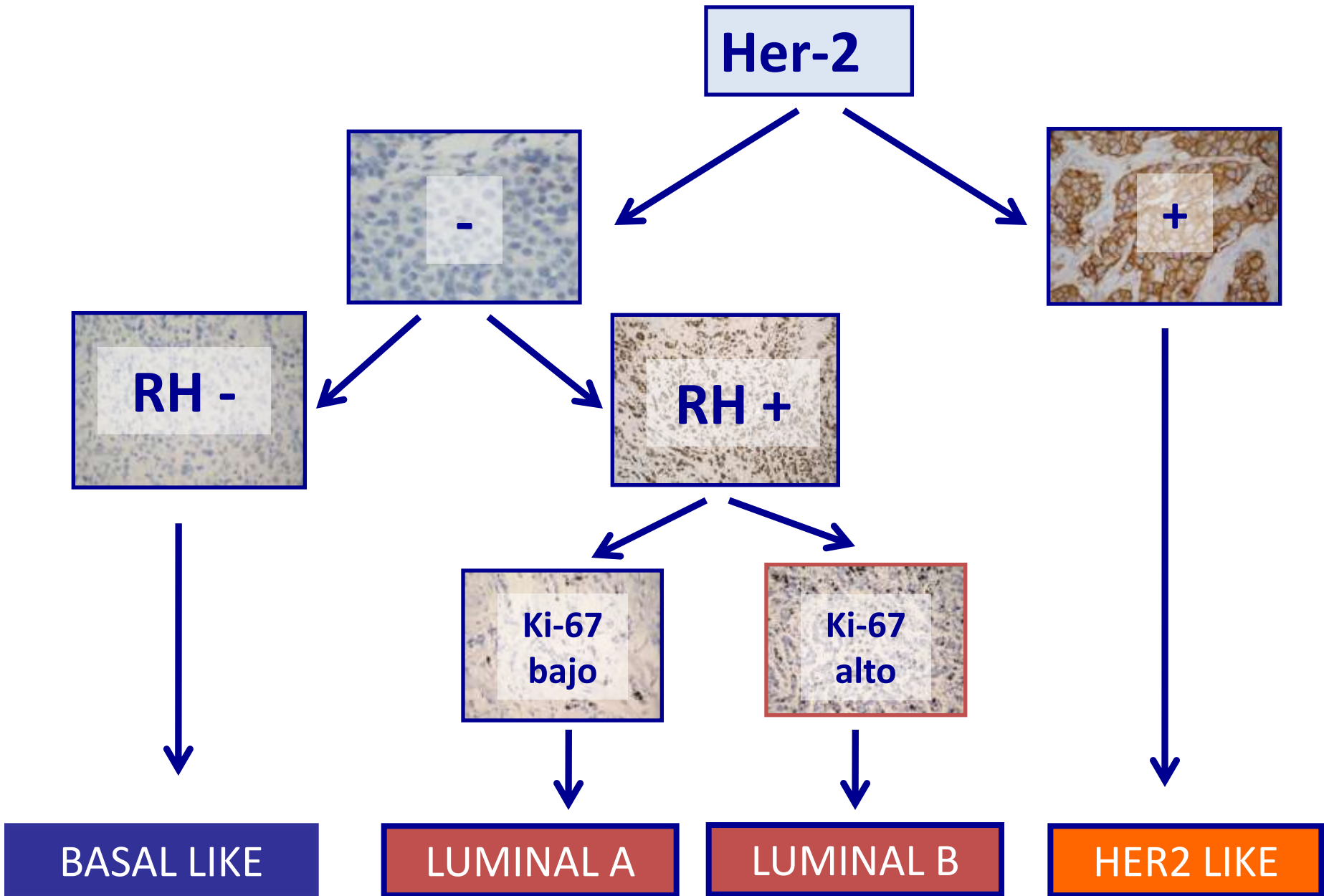
SV global



p53	n	%
<20%	247	89,5
≥20%	29	10,5

<b>Variable</b>	<b>RR</b>	<b>95% C.I.</b>	<b>p (*)</b>
<b>Ki-67 (20%)</b>	<b>2.3</b>	<b>1.24-4.23</b>	<b>0.008</b>
<b>P53 (20%)</b>	<b>2.1</b>	<b>1.05-4.20</b>	<b>0.036</b>
<b>RE (50%)</b>	<b>0.5</b>	<b>0.29-1.06</b>	<b>0.072</b>
<b>RP (50%)</b>	<b>0.7</b>	<b>0.40-1.33</b>	<b>0.3</b>

(\*) Based on Cox regression and stratified according to the data sets

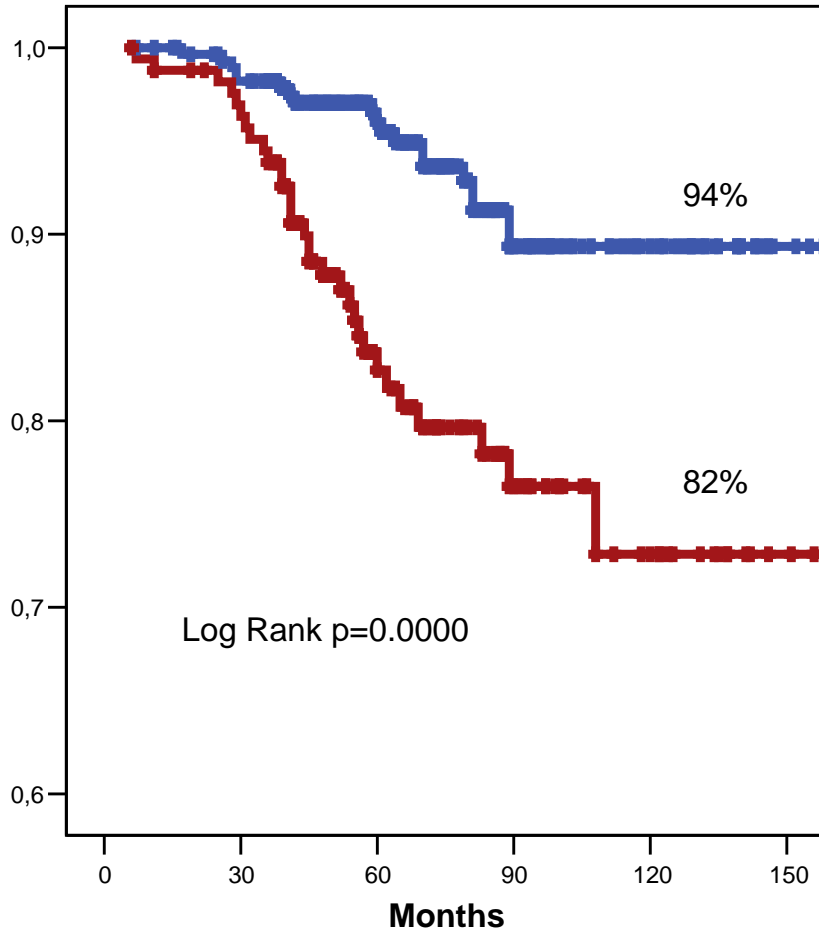


# IHQ y subtipo molecular

Molecular subtype	HR	Her-2	Ki-67 (14%)	Others
Luminal A	ER and/or PgR +	-	Low	
Luminal B	ER and/or PgR +	- +	High (Low)/high	
Her-2	ER and PgR -	+	(Low)/high	
Basal-like	ER and PgR -	-	(Low)/high	CK 5-6 /EGFR

# RH positivo/Her-2 negativo: subtipos y SV

## Overall Survival



Phenotype

— A

— B

+ (Blue)

+ (Red)

RH positivo con riesgo bajo:

63% (n=286)

RE y/o RP  $\geq$  10%

Ki67 y p53  $<$  20%

RH positivo con riesgo alto:

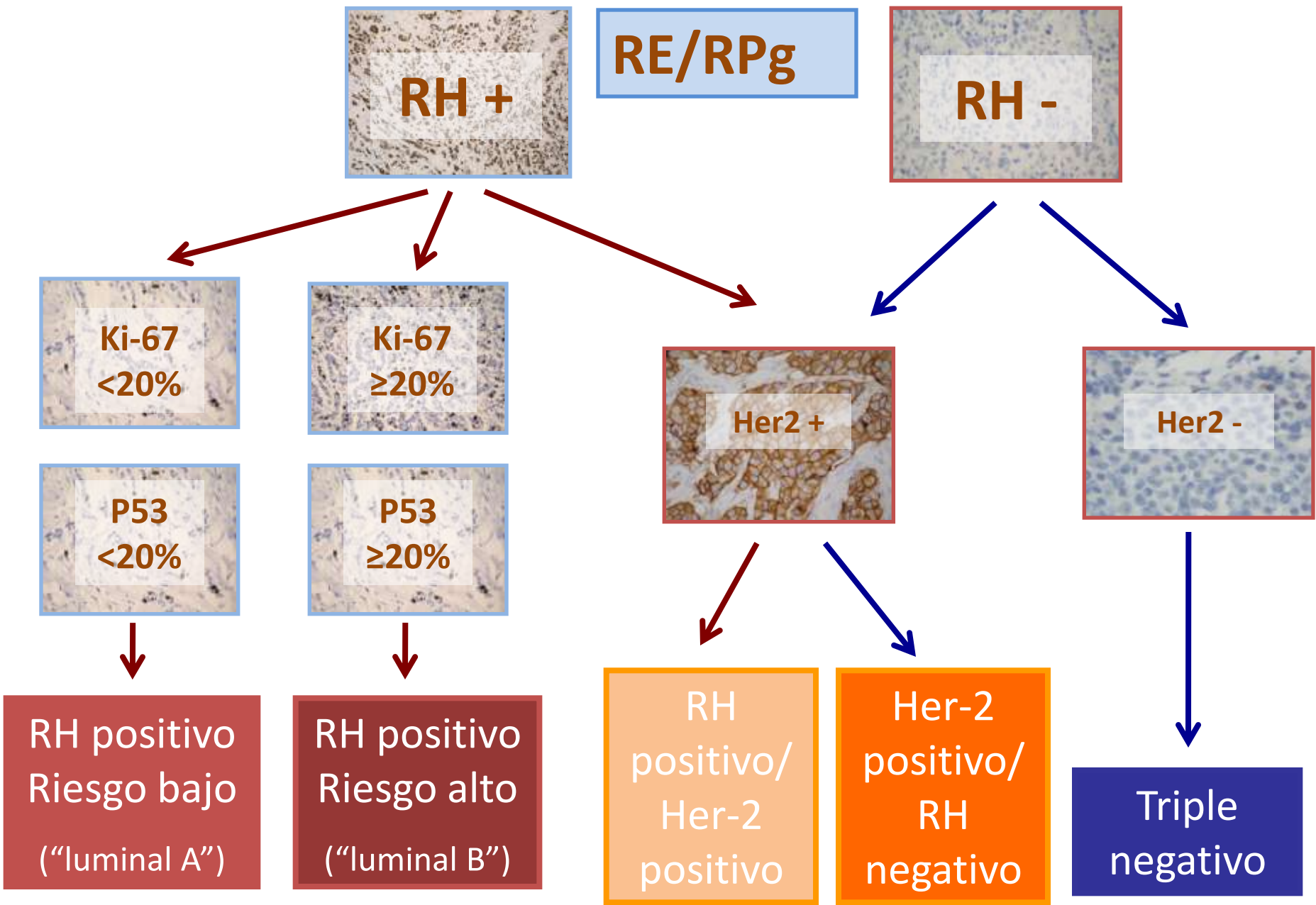
37% (n=166)

RE y/o RP  $<$  10%

Ki67 y/o p53  $\geq$  20%

# Dos grandes grupos de cáncer mamario

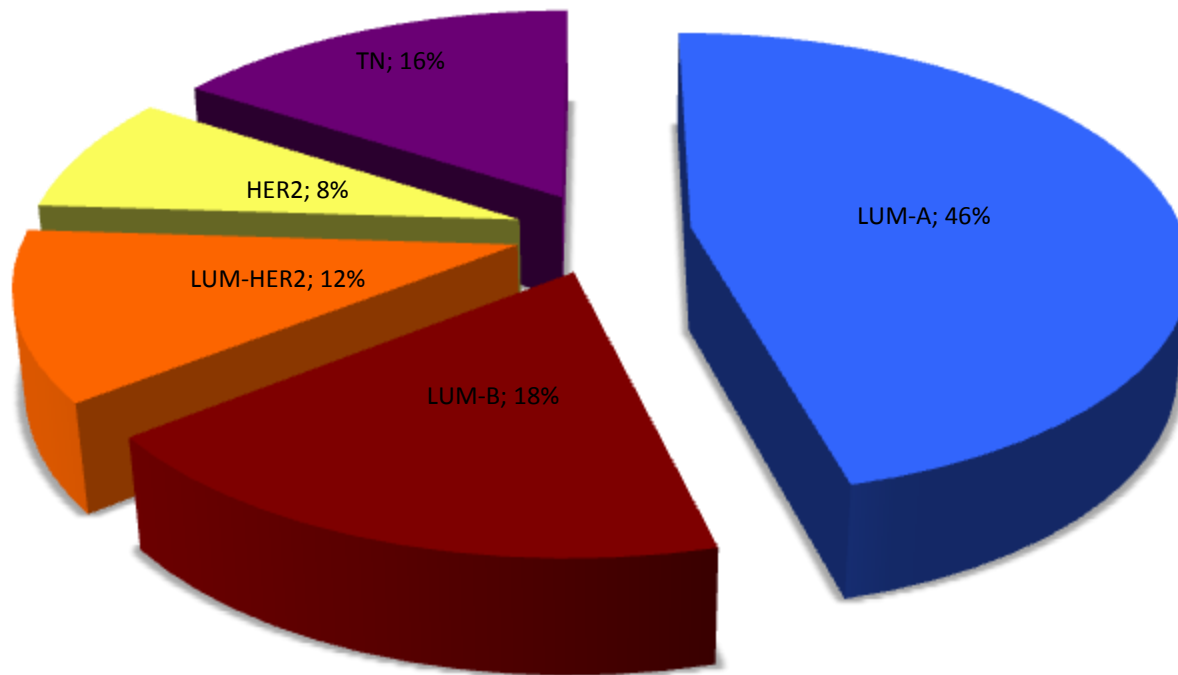
- Enfermedad RE positiva
  - Ki-67 bajo/Her-2 negativa (“luminal A”)
  - Ki67 alto (“Luminal B”)
  - Her-2 positivo (“Luminal B”)
- Enfermedad RE negativa
  - Her-2 positivo
  - Basal-like/triple negativo





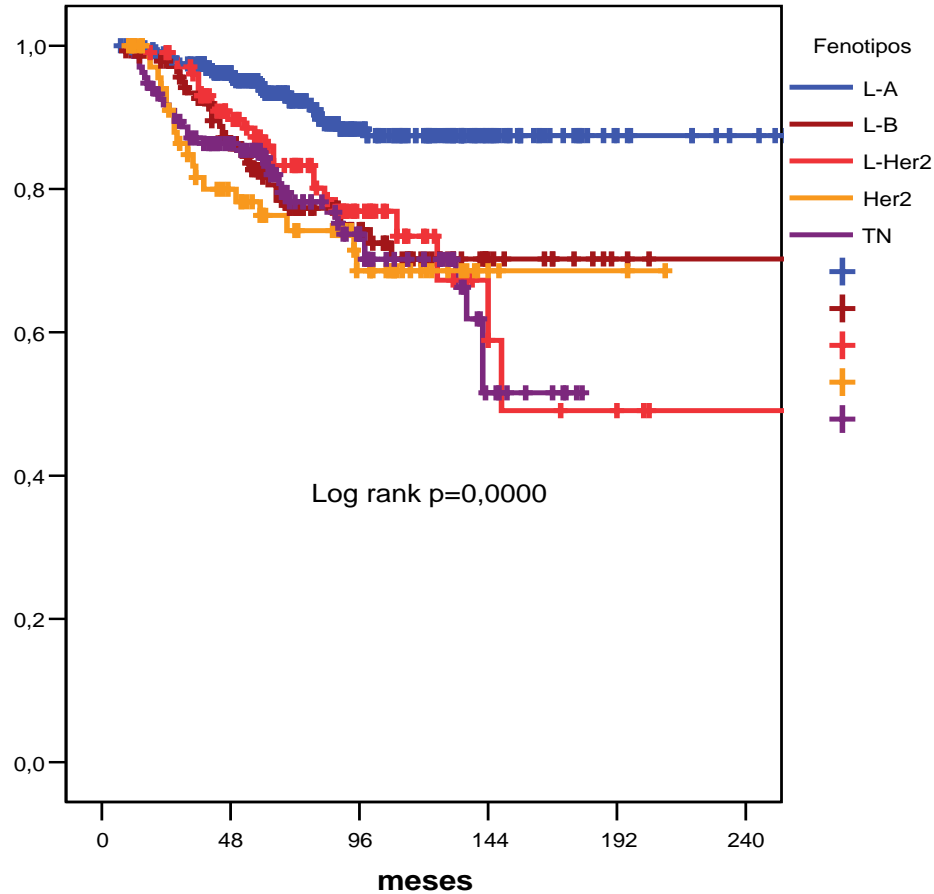
# Fenotipos inmunohistoquímicos. HGUA

Fenotipos IHQ (n=1122)



# Fenotipos y SV

SV global

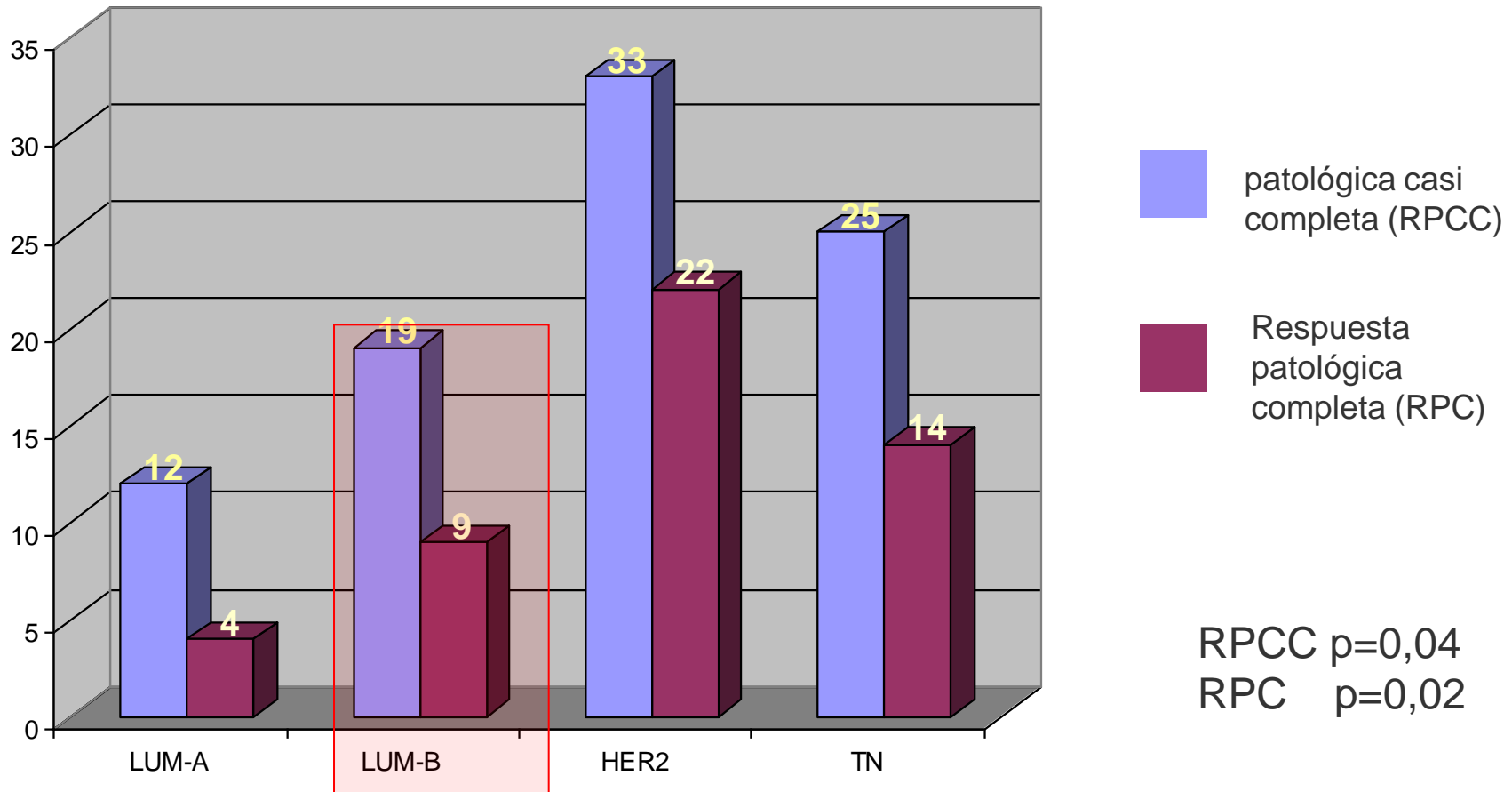


	N	%	SV
LUM-A	363	36,8	91,9
LUM-B	140	14,2	77,1
LUM-HER	107	10,8	78,3
HER-2	75	7,6	76,0
TN	134	13,6	74,6

n=819

Mediana=68 meses

# Respuesta patológica HGUA Fenotipos (n=227)



# Herramientas génicas

	Mammaprint	OncotypeDx	MapQuant Dx	SET index
Base de la prueba	Firma de 70 genes	Score de recaída con 21 genes	97 genes 8 genes, grade index	165 genes (relacionados con ESR1)
Plataforma	Micromatriz	qRT-PCR	Micromatriz/ qRT-PCR	Micromatriz
Tejido	congelado	Fijado/parafina	Fijado/parafina	Congelado
Ensayo prospectivo	MINDACT (6000)	TAILORX (10.500)		
FDA	si	no	no	no
Guías ASCO/NCCN	no	si	no	no
Indicación	Mujeres <61a Estadio I-II N0, >5 cm	RE +/-N0 Hasta 3 GL+	Predicción de respuesta a QT	Sensibilidad a tratamiento endocrino

*Weigelt B et al. J Pathol 2010; 220:263-80 (modificado)*

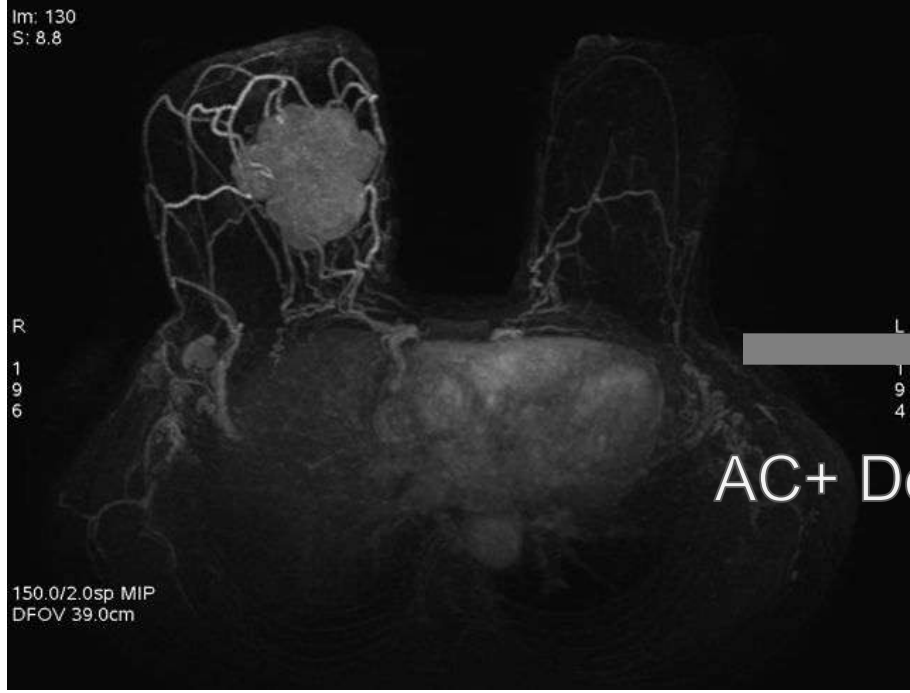
# Grupo dudoso: Aplicación de herramientas génicas

- Mujeres premenopausicas
- RH positivas
- N0/N1 (1-3 ganglios linfáticos positivos)
- Grado 2-3 con Ki67 15-20% (con p53 negativa)

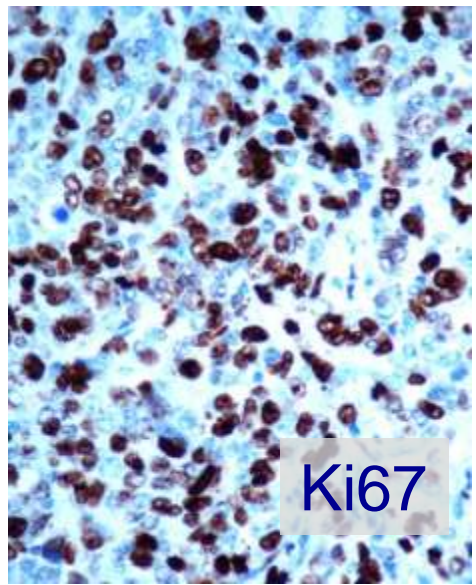
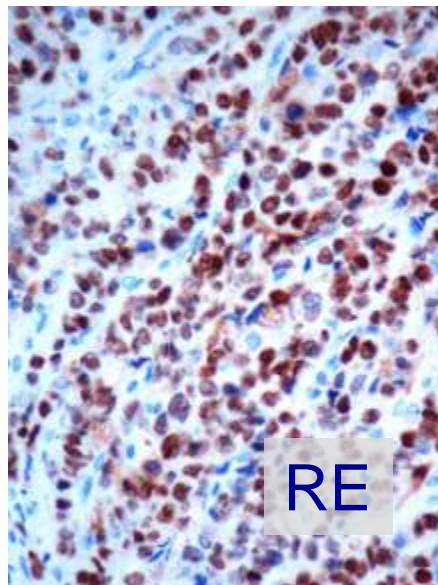
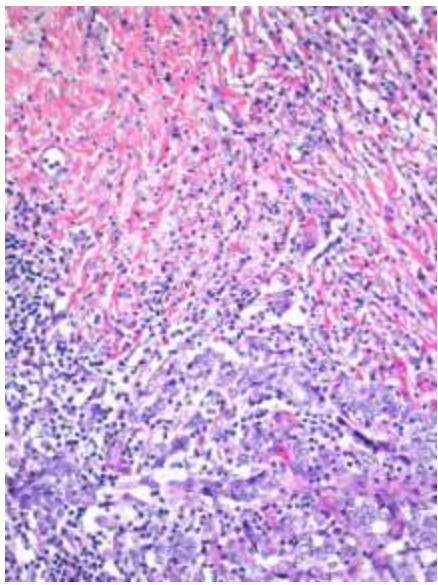
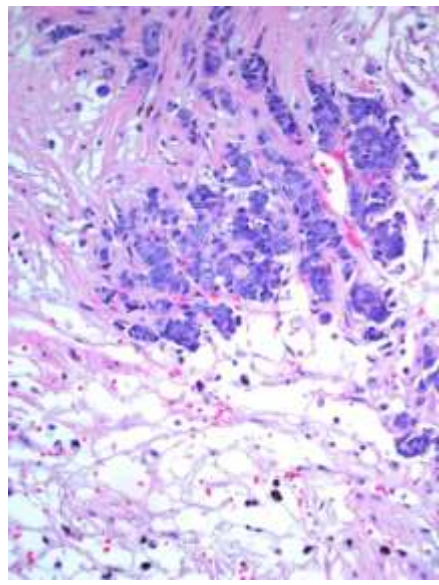
# Criterios de aplicación

Casos RH+, N0, 409/1122 (36%)

Casos RH+, N0, G2-3 con Ki67 15-20% y p53  
negativa, 8/1122 (0,7%)



AC+ Docetaxel



¿Podemos llamar a este tumor luminal B?

SI, siempre que dejemos claro que se basa en la IHQ e indiquemos el criterio.

¿qué papel juega Ki67 y p53 en la decisión pronóstica y terapéutica?

Ayuda a establecer el riesgo de recaída, y contribuye a predecir respuesta a QT



¿qué tratamiento adyuvante estaría indicado?

**Quimioterapia con hormonoterapia**

¿Es necesaria la aplicación de alguna técnica molecular para confirmar el riesgo?

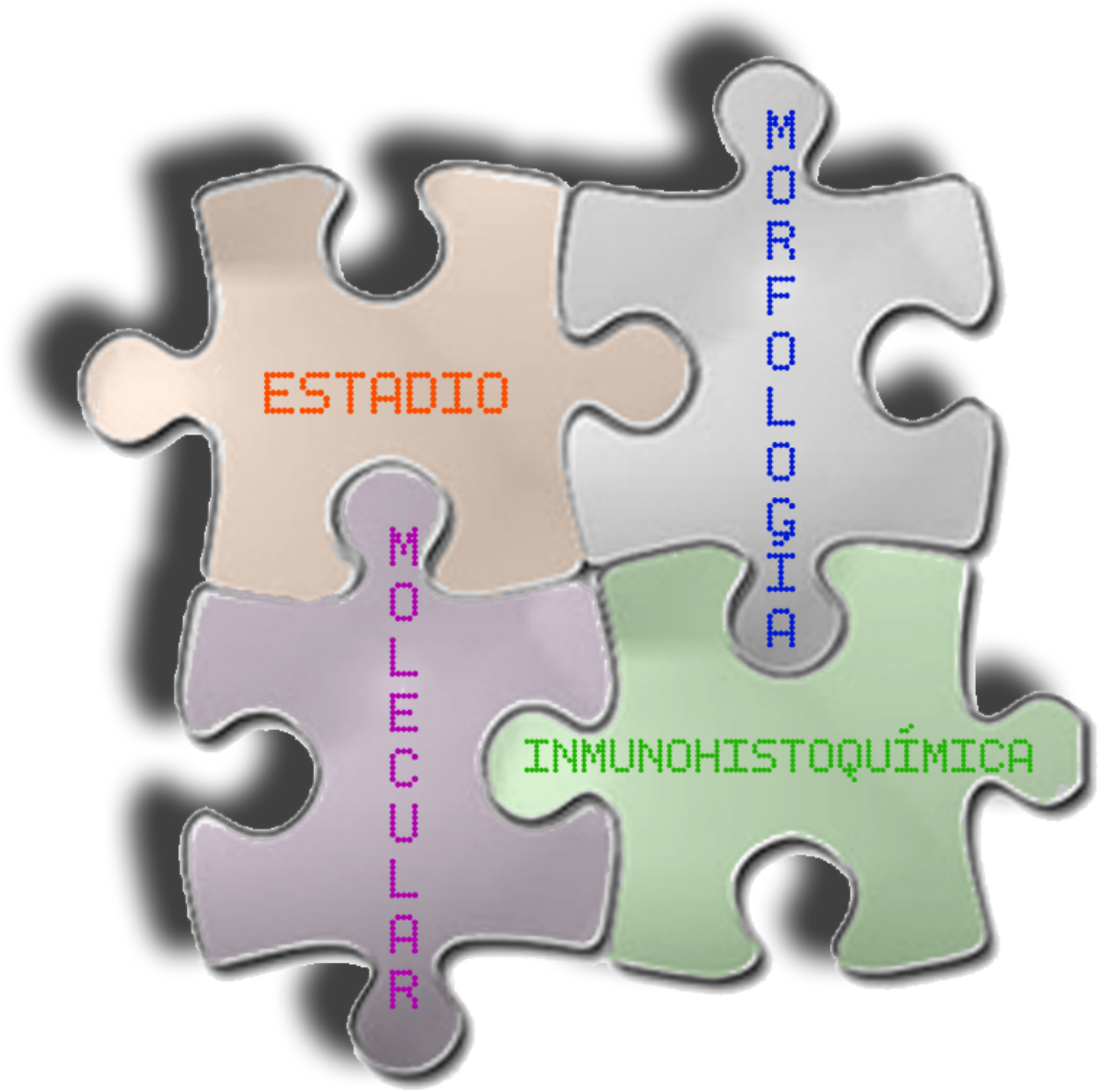
**No**

¿Puede ser tratada con neoadyuvancia?

**Si, con intención de cirugía conservadora**

# Futuro inmediato

- Mejora en la obtención y reproductibilidad de las variables patológicas
- Cuidar la fase “preanalítica”
- Macroscopia, correlación clínico-radiológica
- Criterios histológicos bien definidos
- Inmunohistoquímica/FISH. Guías. Seguimiento de calidad. Acreditación
- Incorporación racional (eficiente) de las herramientas génicas validadas en el contexto de la patología.



ESTADIO

HISTOLOGÍA

MOLECULAR

INMUNOHISTOQUÍMICA

A close-up photograph of a marble bust of a female torso. The sculpture is light-colored and shows detailed musculature and anatomical features. The text is overlaid on the central part of the bust.

Muchas gracias por su  
atención

[aranda\\_ign@gva.es](mailto:aranda_ign@gva.es)