

ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO DEL CARCINOMA DE GLÁNDULA MAMARIA EN EL HOSPITAL VARGAS DE CARACAS

CECILIA BERMÚDEZ V¹, DAVID PARADA D²

INSTITUTO ONCOLÓGICO "DR. LUIS RAZETTI"¹, HOSPITAL VARGAS DE CARACAS²

RESUMEN

OBJETIVO: Estudiar la asociación entre diferentes elementos morfológicos con aspectos inmunohistoquímicos y su posible utilidad pronóstica. **MÉTODOS:** Estudio descriptivo-retrospectivo, de 651 casos de carcinoma mamario con marcaje inmunohistoquímico en el Hospital Vargas de Caracas desde mayo 2001 a julio 2004. Se analizaron características morfológicas de los diferentes tipos tumorales, aplicando la clasificación de Scarff-Bloom-Richardson modificada, relacionándolos con la expresión de diferentes marcadores inmunohistoquímicos: Receptores de estrógeno, receptores de progesterona, *c-erbB-2* y Ki-67, realizados mediante la técnica de biotina-estreptavidina. **RESULTADOS:** La edad promedio fue 51,72 años. El tumor más frecuente fue el carcinoma ductal infiltrante (88,7 %), seguido del carcinoma lobulillar infiltrante (4,6 %). El 5,5 % de los carcinomas ductales eran bien diferenciados, 42,3 % moderadamente diferenciados, 52,2 % poco diferenciados; de estos, el 77 % tenían receptores de estrógeno y de progesterona ≤ 10 %; los carcinomas bien diferenciados mostraron positividad variable. Los tumores poco diferenciados presentaron *c-erbB-2* positivo en 51,36 %, entre los bien diferenciados el 81,84 % fueron negativos, el carcinoma intraductal fue positivo en un 42,86 %, generalmente asociado a comedocarcinoma. El 94,37 % de los tumores poco diferenciados fueron Ki-67 positivos. **CONCLUSIONES:** El carcinoma ductal infiltrante de tipo clásico es el tumor maligno más frecuente de la glándula mamaria, con una edad promedio de 51,5 años, generalmente es poco diferenciado, implicando posiblemente tumores con conducta biológica agresiva. Esto se evidencia por la negatividad para receptores hormonales y la expresión aumentada de *c-erbB-2* y Ki-67.

PALABRAS CLAVE: Carcinoma, ductal, infiltrante, receptores de estrógeno, receptores de progesterona, *c-erbB-2*, Ki-67.

SUMMARY

OBJECTIVE: To study and assess the association between different morphological and pathologic features and immunohistochemistry as a prognostic factor. **METHODS:** A retrospective-descriptive study of 651 cases of breast cancer by immunohistochemistry markers was analyzed in the Vargas Hospital of Caracas since May 2001 until July 2004. We evaluate the pathologic features of the different tumor subtypes, and relation this with the expression of immunohistochemistry markers: The estrogen receptor, progesterone receptor, *c-erbB-2* and Ki-67, made by the biotin-streptavidin technique. **RESULTS:** The median patient age was 51.72 years. The most frequent type of tumor was the invasive duct carcinoma (88.7 %), follow by the invasive lobular carcinoma (4.6 %). The 5.5 % of the duct carcinomas were well differentiated tumors, 42.3 % moderate differentiated, and 52.2 % poorly differentiated; in which 77 % had estrogen receptor and progesterone receptor ≤ 10 %, well differentiated tumors show a variable positivity. The poorly differentiated tumors show positive *c-erbB-2* in 51.36 %, in the well-differentiated group 81.84 % were negative; the *c-erbB-2* on intraductal carcinoma was positive in 42.86 %, generally associated with the comedocarcinoma; the 94.7 % of the poorly differentiated tumors were Ki-67 positives. **CONCLUSIONS:** Classic invasive duct carcinoma is the most frequent malignant tumor, with a median age of 51.5 years, and the poorly differentiated tumors generally show an aggressive biologic conduct, associated to patients with estrogen receptors and progesterone receptors negative tumors and a high expression of the *c-erbB-2* y Ki-67.

KEY WORDS: Carcinoma, infiltrating, ductal, estrogen receptor, progesterone receptor, *c-erbB-2*, Ki-67.

Recibido: 02/03/2007 Revisado: 22/03/2007
Aceptado para publicación: 30/03/2007

Correspondencia: Dra. Cecilia Bermúdez. Instituto Oncológico "Dr. Luis Razetti"
Calle Real de Cotiza San José. Caracas, Venezuela
Telf. (0414) 452 7805;
e-mail: ceciliabermudez7@yahoo.es

INTRODUCCIÓN

El carcinoma de la glándula mamaria representa una entidad patológica de alta incidencia en las mujeres de todo el mundo, y cada año se presentan 600 000 nuevos casos⁽¹⁾. En Venezuela, ocupa el segundo lugar como causa de muerte, superado sólo por el cáncer de cuello uterino.

En el estudio del carcinoma de la glándula mamaria se utilizan una serie de técnicas para el análisis por microscopia óptica, que van desde la coloración convencional con hematoxilina y eosina, hasta la demostración de antígenos específicos con marcaje inmunohistoquímico. El estudio inmunohistoquímico se ha establecido como una herramienta de valor incalculable en la determinación de la respuesta al tratamiento, tasa de crecimiento e identificación del origen de tumores poco diferenciados⁽²⁾.

Debido a las grandes utilidades de la aplicación de la inmunohistoquímica en el análisis del carcinoma de la glándula mamaria y las aun innumerables preguntas sin respuesta que derivan de la misma, nace la inquietud de realizar un estudio de frecuencia y asociación entre los diferentes marcadores inmunohistoquímicos más utilizados en su análisis, y su expresión en el carcinoma mamario de acuerdo a su tipo histológico y grado de diferenciación, así como su utilidad diagnóstica y pronóstica.

MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo en el que se analizaron los casos de carcinoma de la glándula mamaria con marcaje inmunohistoquímico realizados en el servicio de anatomía patológica del Hospital Vargas de Caracas en el período comprendido entre mayo de 2001 y julio de 2004. Se incluyeron pacientes de sexo femenino y cualquier grupo etario con carcinoma de la glándula mamaria

diagnosticado, y estudio inmunohistoquímico en el centro, independientemente de su procedencia hospitalaria. El material estaba constituido por piezas quirúrgicas del Hospital Vargas y bloques de parafina enviados de otros centros hospitalarios. En el procesamiento del material, los cortes tisulares fueron fijados en formol bufferado a pH neutro e incluidos en parafina, se realizaron cortes histológicos menores o iguales a 4 µm, se colorearon con hematoxilina de Mayer, y se contrastaron con eosina alcohólica. Las preparaciones histológicas fueron revisadas por un médico anatomopatólogo y un médico residente, utilizando los criterios diagnósticos descritos en la literatura; en el caso de carcinomas ductales infiltrantes se aplicó el sistema de gradación para carcinoma mamario invasivo de Scarff, Bloom y Richardson modificado por Elston⁽³⁻⁶⁾.

En las coloraciones inmunohistoquímicas se utilizó la técnica inmunoenzimática de biotina-estreptavidina; las secciones histológicas fueron rehidratadas y lavadas con TBS (solución bufferada) por 5 min; se enjuagaron con agua destilada y calentaron en microondas por un lapso de 15 a 45 min en solución DAKO-retrival (DAKO Corp. S.A[®]) de citrato de sodio y ácido cítrico a pH neutro y se enjuagaron con solución salina bufferada (pH 7,4); el peróxido endógeno se bloqueó con peróxido de hidrógeno al 3 % por 10 min, y lavado con TBS por 5 min, se incubaron con anticuerpos monoclonales para receptores de estrógeno y progesterona, (RE) (RP) antígeno Ki-67 y oncogén *c-erbB-2*; Luego se lavaron dos veces con TBS por 5 min, e incubaron con complejo AB (DAKO Emvision[®]) por 20 min, se lavaron nuevamente con TBS y se revelaron con sustrato de tetrahidroclorhidro de diaminobenzidina (Emvision[®]); cada anticuerpo fue comparado con el control positivo adecuado. Finalmente los cortes se contrastaron con hematoxilina de Mayer, se deshidrataron, aclararon y montaron para su estudio.

Se analizó la positividad, frecuencia e intensidad de receptores de estrógeno y

progesterona, *c-erbB-2* y Ki-67, relacionándolos con los hallazgos clínicos patológicos en los carcinomas más frecuentes, ductal y lobulillar infiltrantes, mucinoso e intraductal. Al evaluar los marcadores de estrógeno, progesterona y Ki-67, la intensidad de la reacción se clasificó como negativa cuando no hubo reacción, o si un número menor o igual 10 % de las células tumorales fijaban el marcador, se consideró moderada si se observaba positividad nuclear entre un 11 % y un 69 % de las células, y fuertemente positiva cuando marcaban 70 % o más de los núcleos, esta clasificación se utilizó para evitar diferencias substanciales en la interpretación de los hallazgos. En el caso del *c-erbB-2* se registró de acuerdo a los siguientes parámetros: (-) cuando sea nula o ausente, (+) si por lo menos el 50 % de las células reaccionan positivamente en la membrana citoplasmática, (++) cuando la positividad se observe en un rango del 51 % al 89 %, y (+++) si más del 90 % de las células son positivas para el marcador en estudio.

Los hallazgos fueron recolectados en una matriz de datos diseñada para tal fin. Para el análisis estadístico de la información obtenida se utilizó el programa computarizado Epi Info versión 6.04b de 1997 de la Organización Mundial de la Salud.

RESULTADOS

Se evaluaron un total de 703 biopsias diagnosticadas como carcinomas de la glándula mamaria con estudio inmunohistoquímico en el servicio de anatomía patológica del Hospital Vargas en el período comprendido entre mayo de 2001 y julio de 2004. Se excluyeron 37 muestras debido a la no disponibilidad de las láminas histológicas correspondientes, 11 muestras por pertenecer a tejidos con carcinoma mamario metastático (ganglios linfáticos y partes blandas), 2 biopsias por presentar cambios artefactuales acentuados, y 2 biopsias correspondientes a

pacientes del sexo masculino. No fue necesario reclasificar ninguno de los casos evaluados. La muestra quedó constituida por 651 casos de carcinoma de glándula mamaria.

DISTRIBUCIÓN POR GRUPO ETARIO Y TIPO DE TUMOR

La edad de las pacientes varió entre 22 y 98 años, con un promedio de 51,72 años. El carcinoma ductal infiltrante se encontró en un amplio rango de edad, con una mayor frecuencia entre los 42 a 56 años y promedio de 51,5 años. El carcinoma lobulillar infiltrante también se presentó en todos los grupos etarios, con máxima incidencia entre los 40 y 62 años y edad promedio de 54,42 años. El carcinoma mucinoso se presentó entre los 38 y 76 años, la edad promedio fue de 56,22 años. El carcinoma intraductal estuvo comprendido entre los 35 y 77 años, con promedio de 53,76 años. Otros tumores menos frecuentes (carcinoma micro invasor, mixto, papilar, sarcomatoide epitelial-mioepitelial y adenoescamoso) se presentaron, en promedio, como está representado en el Cuadro 1.

GRADO DE DIFERENCIACIÓN DEL CARCINOMA DUCTAL INFILTRANTE

El carcinoma ductal infiltrante fue predominantemente poco diferenciado (301 casos, 52,2 %), con sumatoria de 8 y 9 puntos en la escala de Scarff, Bloom y Richardson modificada. Los carcinomas moderadamente diferenciados (6 y 7 puntos), ocupan en el segundo lugar (245 casos, 42,3 %), seguidos de los bien diferenciados (3 a 5 puntos) con 32 casos (5,5 %). El 97,9 % de los carcinomas ductales infiltrantes fueron de tipo clásico (566), 11 casos (1,9 %) de tipo sólido y uno (0,2 %) micropapilar. En 107 casos (18,9 %) de carcinoma ductal infiltrante clásico se observaron diversas áreas de diferenciación tumoral, de tipo sólido (4,94 %), micropapilares (4,59 %) y papilares (3,71 %); el resto estuvo representado por zonas adenoideo quísticas, de células claras, tubulares, mucinosas y con

diferenciación escamosa (5,64 % en conjunto).

Por otra parte, se evidenció que los carcinomas ductales poco diferenciados también presentaban mayor proporción de invasión vascular (57,47 %), infiltración del tejido adiposo circundante (70,43 %), componente intraductal tipo comedo carcinoma (46,25 %) y necrosis intratumoral (34,88 %),

RELACIÓN ENTRE EL GRADO HISTOLÓGICO DEL CARCINOMA DUCTAL INFILTRANTE Y RE

La mayoría de los carcinomas ductales infiltrantes poco diferenciados mostraron escasa o nula positividad (≤ 10 %) para los RE (233 casos, 77,41 %), una pequeña fracción (29 casos, 9,63 %) fueron francamente positivos (>70 %), (Cuadro 2). Los tumores bien y moderadamente

diferenciados también fueron, en su mayoría, negativos, no pudiéndose demostrar en este caso una relación directa con la expresión de RE. Sin embargo, se aprecia que el 24,89 % de los carcinomas moderadamente diferenciados son RE positivos ($P = 0,000$).

RELACIÓN ENTRE EL GRADO HISTOLÓGICO DEL CARCINOMA DUCTAL INFILTRANTE Y RP

Los RP también fueron predominantemente negativos en los carcinomas ductales poco diferenciados (234 casos, 77,74 %). Cabe destacar que en cuanto a los RP, los tumores bien y moderadamente diferenciados mostraron una positividad relativamente mayor, con una expresión variable entre 11 % y 69 % en 73 casos (70,54 %) y positividad >70 % en 54 casos (35,63 %), ($P = 0,000$) (Cuadro 3).

Cuadro 1. Distribución por grupo etario y tipo de tumor (n = 651)

Grupo etario	Carcinoma ductal infiltrante	Carcinoma lobulillar	Carcinoma mucinoso	Carcinoma intraductal	Otros tumores	Total
20-24	2	0	0	0	0	2
25-29	14	0	0	0	0	14
30-34	27	0	0	0	1	28
35-39	45	0	3	1	3	52
40-44	61	4	1	2	3	71
45-49	77	4	1	5	2	89
50-54	86	8	2	0	1	97
55-59	59	2	2	0	1	64
60-64	52	1	0	2	1	56
65-69	31	0	2	1	1	35
70-74	34	2	1	1	0	38
75-79	18	2	1	1	1	23
80-84	15	0	0	0	0	15
85-89	7	0	0	0	0	7
90-94	3	0	0	0	0	3
95-99	1	0	0	0	0	1
No reportado	46	7	2	1	0	56
Total	578	30	15	14	14	651

Cuadro 2. Relación entre el grado histológico del carcinoma ductal infiltrante y receptores de estrógeno (n = 578)

Carcinoma ductal infiltrante	RE < 10 %	RE 11 % – 69 %	RE > 70 %	Total %
Bien diferenciado	13 (40,62)	9 (28,13)	10 (31,25)	32 (100)
Moderadamente diferenciado	132 (53,89)	52 (21,22)	61 (24,89)	245 (100)
Poco diferenciado	233 (77,41)	39 (12,96)	29 (9,63)	301 (100)
Total	378	100	100	578

RELACIÓN ENTRE EL GRADO HISTOLÓGICO DEL CARCINOMA DUCTAL INFILTRANTE Y *c-erbB-2*

La determinación de *c-erbB-2* se realizó en 515 casos de carcinoma ductal infiltrante (Cuadro 4); el *c-erbB-2* fue negativo en la mayoría de los tumores poco diferenciados (131 casos, 48,34 %), con una positividad entre el 51 % al 89 % y > 90 % en 90 casos (33,21 %). La mayoría de los tumores bien y moderadamente diferenciados (164 casos) fueron *c-erbB-2* negativos (P = 0,002).

RELACIÓN ENTRE EL GRADO HISTOLÓGICO DEL CARCINOMA DUCTAL INFILTRANTE Y Ki-67

El marcaje para Ki-67 se realizó en 576 casos de carcinoma ductal infiltrante (Cuadro 5). Los carcinomas poco diferenciados presentan una expresión moderada (11 % - 69 %) y elevada (>70 %), con 150 y 109 casos (55,56 % y 40,37 % respectivamente). Los tumores bien y moderadamente diferenciados tuvieron presencia variable de Ki-67, con 17 y 186 casos cada uno (65,38 % y 86,11 % respectivamente). El 30,77 % (8 casos) de los tumores bien diferenciados presentaron Ki-67 negativo (P = 0,000).

Cuadro 3. Relación entre el grado histológico del carcinoma ductal infiltrante y receptores de progesterona (n = 578)

Carcinoma ductal infiltrante	RP < 10 %	RP 11 – 69 %	RP > 70 %	Total %
Bien diferenciado	12 (37,50)	15 (46,87)	5 (15,63)	32 (100)
Moderadamente diferenciado	138 (56,33)	58 (23,67)	49 (20)	245 (100)
Poco diferenciado	234 (77,74)	48 (15,95)	19 (6,31)	301 (100)
Total	384	121	77	578

Cuadro 4. Relación entre el grado histológico del carcinoma ductal infiltrante y c-erbB-2 (n = 515)

Carcinoma ductal infiltrante	c-erbB-2 (-) Negativo %	c-erbB-2 (+) 1 %-49 %	c-erbB-2 (++) 50 %-89 %	c-erbB-2 (+++) > 90 %	Total %
Bien diferenciado	22 (81,48)	2 (7,41)	1 (3,70)	2 (74,1)	27 (100)
Moderadamente diferenciado	142 (65,44)	31 (14,29)	15 (6,91)	29 (13,36)	217 (100)
Poco diferenciado	131 (48,34)	50 (18,45)	32 (11,81)	58 (21,40)	271 (100)
Total	295	83	48	89	515

RELACIÓN ENTRE EL CARCINOMA LOBULILLAR INFILTRANTE Y LOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS

La mayoría de los carcinomas lobulillares presentaron RE y RP negativos (Cuadro 6), con 15 y 16 casos cada uno (50 % y 53,33 % respectivamente). La determinación de Ki-67 y c-erbB-2 se realizó en 26 de los 30 casos estudiados. La expresión de Ki-67 fue principalmente negativa (20 casos, 76,92 %). El c-erbB-2 fue negativo en todos los casos (P = 0,000).

RELACIÓN ENTRE EL CARCINOMA MUCINOSO Y LOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS

Los quince casos de carcinoma mucinoso presentaron expresión similar para los receptores hormonales (Cuadro 7); 5 casos < 10 % (33,33 %), 7 casos con receptores entre 11 % y 69 % (46,67 %) y en 3 casos fue > 70 % (20 %). El Ki-67 y el c-erbB-2 se realizaron en 13 casos. El Ki-67 tuvo marcaje moderado en 8 casos (61,54 %) y negativo en 5 casos (38,46 %). La mayoría de los carcinomas mucinosos (11 casos, 84,62 %) fueron c-erbB-2 negativos, (P = 0,000).

Cuadro 5. Relación entre el grado histológico del carcinoma ductal infiltrante y Ki-67 (n = 512)

Carcinoma ductal infiltrante	Ki-67 < 10 %	Ki-67 11 % - 69 %	Ki-67 > 70 %	Total
Bien diferenciado	8 (30,77)	17 (65,38)	1 (3,85)	26 (100)
Moderadamente diferenciado	24 (11,11)	186 (86,11)	6 (2,78)	216 (100)
Poco diferenciado	11 (4,07)	150 (55,56)	109 (40,37)	270 (100)
Total	43	353	116	578

Cuadro 6. Relación entre el carcinoma lobulillar infiltrante y los marcadores inmunohistoquímicos (RE y RP n = 30) (Ki-67 n = 26)

Marcadores IHQ	< 10 %	11-69 %	> 70 %	Total
RE	15 (50)	8 (26,67)	7 (23,33)	30 (100)
RP	16 (53,34)	7 (23,33)	7 (23,33)	30 (100)
Ki-67	20 (76,92)	6 (23,08)	0	26 (100)

IHQ: inmunohistoquímica

RELACIÓN ENTRE EL CARCINOMA INTRADUCTAL Y LOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS

La mayoría de los carcinomas intraductales tuvieron receptores hormonales negativos (8 casos, 57,14 %), (Cuadro 8). El Ki-67 presentó un marcaje variable (12 casos, 85,72 %). La expresión de *c-erbB-2* fue predominantemente negativa (8 casos, 57,14 %), (P = 0,000). Los carcinoma intraductales de tipo comedocarcinoma y sólido fueron los encontrados más frecuentemente, ya sea como componente único, o en combinación entre ambos o con los tipos cribiforme y micropapilar (6 casos, 42,85 %) respectivamente.

Cuadro 7. Relación entre el carcinoma mucinoso, receptores hormonales Y Ki-67 (RE y RP n = 15) (Ki-67 n = 13)

Marcadores IHQ	< 10 %	11-69 %	> 70 %	Total
RE	5 (33,33)	7 (46,67)	3 (20)	15 (100)
RP	5 (33,33)	7 (46,67)	3 (20)	15 (100)
Ki-67	5 (38,46)	8 (61,54)	0	13 (100)

DISCUSIÓN

El carcinoma ductal infiltrante es la neoplasia maligna más frecuente de la glándula mamaria, la incidencia en la literatura revisada, varía entre un 65 % a 80 %, tanto a nivel mundial como en Latinoamérica^(3,4,7-9); en este estudio, el carcinoma ductal infiltrante representó el 88,8 % de los casos, constituyéndose en el principal tipo de carcinoma a ser analizado. El carcinoma lobulillar infiltrante ocupa el segundo lugar (4,6 %), este tipo de carcinoma puede variar en frecuencia desde el 3 % hasta el 17 % dependiendo de cuán estrictos sean los criterios utilizados en su diagnóstico^(3,9).

Cuadro 8. Relación entre el carcinoma intraductal, receptores hormonales y Ki-67 (n = 14)

Marcadores IHQ	< 10 %	11 %-69 %	> 70 %	Total
RE	8 (57,14)	5 (35,72)	1 (7,14)	14 (100)
RP	8 (57,14)	3 (21,43)	3 (21,43)	14 (100)
Ki-67	1 (7,14)	12 (85,72)	1 (7,14)	14 (100)

En un estudio de frecuencia del carcinoma mamario en grandes series (190 458 casos) realizado por Li y col., se ha comprobado que las tasas de incidencia del carcinoma ductal infiltrante se han mantenido esencialmente constantes desde 1997 hasta 1999, mientras que el carcinoma lobulillar infiltrante y el carcinoma mixto ductal-lobulillar han presentado un aumento que varía entre el 9,5 % y 15,6 %. Se discute la posibilidad de que este incremento puede estar relacionado con el uso de terapia hormonal de reemplazo, o con la dificultad para el diagnóstico del carcinoma lobulillar dadas sus manifestaciones subclínicas^(10,11). Este estudio no evidenció un aumento substancial del mismo, lo cual puede deberse a la diferencia en el número de casos analizados, el uso de tratamiento hormonal sustitutivo o las dificultades diagnósticas.

Los carcinomas mucinosos tuvieron una frecuencia similar (2,3 %) a la reportada en la literatura, la cual varía entre el 2 % y el 7 %^(3,12). En contraste, la incidencia de carcinomas intraductales fue significativamente menor (2,1 %), la diferencia entre los casos de carcinoma intraductal diagnosticados en Venezuela y la referida en países industrializados, que ha experimentado un aumento importante en las últimas dos décadas, y ha variado desde el 2 % al 20 %, probablemente relacionada con la implementación de campañas educativas y jornadas de pesquisa, lo que permite un diagnóstico precoz de lesiones mamarias y accesibilidad a métodos diagnósticos cada vez más especializados⁽¹³⁾. Los restantes tipos de carcinoma de la glándula mamaria constituyeron en conjunto el 2,3 % de los casos.

La edad promedio de las pacientes en general fue 51,71 años, y en el carcinoma ductal infiltrante fue de 51,5 años, ésta fue ligeramente mayor a la reportada en las investigaciones revisadas^(3,4,8,9). La edad de presentación varió en un amplio rango, pero hay que destacar que 16 casos (2,45 %), todos de carcinoma ductal infiltrante, se presentaron en mujeres menores

de 30 años, la menor de 22 años, sin embargo, se desconocen los antecedentes familiares de estas pacientes para poder establecer una correlación con la predisposición genética^(14,15). El 56,97 % de las pacientes eran posmenopáusicas, lo que representa un porcentaje menor que el establecido en la literatura^(4,8), por lo que no es posible relacionar la incidencia con el estatus hormonal y el incremento de la edad⁽¹⁵⁾.

En cuanto al carcinoma lobulillar infiltrante, la edad promedio fue de 54,42 años, la cual se ubica un poco por debajo de la descrita para el mismo, de 57 años^(3,4,8,9) y no refleja un aumento del carcinoma lobulillar a medida que aumenta la edad, a diferencia de lo encontrado por Li y col.⁽¹⁶⁾. La edad media de las pacientes con carcinoma mucinoso es generalmente mayor a la de las pacientes con carcinomas no mucinosos^(3,12), tal como se encontró en este estudio. La edad de presentación del carcinoma intraductal depende del momento del diagnóstico y está relacionada con la aplicación de sistemas de detección precoz⁽¹³⁾, en esta investigación se encontró entre las edades de riesgo para el carcinoma mamario, con un promedio de 53,76 años.

La variante histológica tipo clásica del carcinoma ductal infiltrante se observó en casi la totalidad de los casos, éste representa el modo de presentación más frecuente del carcinoma ductal infiltrante en todas las series revisadas^(3,4,9,17). La presencia de componentes tumorales con características histológicas diferentes, ya sea más o menos diferenciadas dentro del mismo tumor, se relacionan con una modificación del comportamiento biológico, por ejemplo, en los tumores con componente sólido único o parcial, se ha encontrado una menor expresión de receptores hormonales, presencia de aneuploidía y aumento de positividad para p53⁽¹⁸⁾; el componente micropapilar puro o parcial se relaciona con mayor incidencia de metástasis ganglionar linfática⁽¹⁹⁾, mientras que las áreas mucinosas, adenoideo quísticas y tubulares se asocian a un mejor pronóstico^(3,4,18).

La evaluación histológica del carcinoma ductal infiltrante se realiza aplicando la escala de Scarff, Bloom y Richardson modificada⁽⁶⁾, lo que determina el grado de diferenciación histológica. En la mayoría de los casos (52,2 %) se encontraron carcinomas poco diferenciados, lo que coincide con los hallazgos de Hamana y Bianchi en Venezuela⁽²⁰⁾, y Cerdera⁽⁸⁾, en Argentina. Tomando en cuenta estos estudios, se puede postular que el diagnóstico se realiza en una forma tardía, lo que permite un mayor período para la progresión tumoral⁽⁸⁾.

En un estudio de 372 pacientes realizado por Volpi, determinaron que el grado histológico del carcinoma ductal infiltrante y su comportamiento biológico parece estar relacionados básicamente con el índice mitótico, independientemente de la cantidad de componente tubular y el pleomorfismo nuclear. Encontraron una tasa de sobrevida menor en los carcinomas ductales poco diferenciados, donde el conteo de mitosis estaba directamente asociado con la presencia de metástasis ganglionar y sobrevida a largo plazo^(21,22). Otros autores recomiendan el uso del grado nuclear como factor independiente o en combinación con variables clínicas en la estimación del pronóstico^(23,24). Sin embargo, la mayoría de los autores concuerdan en que el conjunto de ellos son significativos para predecir el comportamiento biológico^(3,4,9). El pronóstico de los carcinomas ductales también está relacionado desfavorablemente con la presencia de invasión vascular linfática, extensión local, la cantidad de componente intraductal, principalmente de tipo comedocarcinoma y la necrosis intratumoral^(3,25,26).

Los RE representan una fuente de información pronóstica importante, en cuanto a la respuesta al tratamiento e intervalo libre de enfermedad. En general, los carcinomas ductales poco diferenciados expresan poca proporción de RE^(27,28), tal como se evidenció en este estudio. Los tumores bien diferenciados tienden a tener mayor positividad de RE y un comportamiento

biológico menos agresivo^(3,27), sin embargo, esto no pudo ser corroborado.

Basados en estudios genéticos, donde se comprueba que los tumores con RE positivos y RE negativos exhiben complejos patrones de expresión genética diferentes, nace la teoría de que en realidad existen dos tipos de tumores fenotípicamente disímiles. Se postula que la presencia de RE por parte de las células tumorales puede indicar un origen divergente, es decir, en diferentes tipos de células epiteliales de la glándula mamaria, o que puede ser el reflejo de la progresión tumoral de lesiones RE (-) que se desarrollan a partir de tumores RE (+)⁽²⁹⁾.

Además, al relacionar la presencia de RE con parámetros morfológicos, se encuentra que los tumores de mama RE negativos tienen varias características morfológicas en común, tales como grado histológico poco diferenciado, componente intraductal tipo comedocarcinoma y necrosis intratumoral, según lo reportado por Putti y col.⁽³⁰⁾, hallazgos comparables con los encontrados en este estudio y que en conjunto con la expresión de p53, *c-erbB-2* y el factor de crecimiento epidérmico, respaldan para este autor el concepto de que los tumores RE negativos representan una entidad morfológica y fenotípicamente diferente. Cabe destacar, que en otros estudios, como el realizado por Scawn y col.⁽³¹⁾, también se considera a los carcinomas RE negativos como una entidad diferente, sin embargo, resaltan el hecho de que no todos tienen un comportamiento agresivo, dada la ausencia de metástasis ganglionar linfática encontrada en su estudio, la cual alcanza el 43 %.

La evaluación de receptores hormonales comprende también el marcaje de receptores de progesterona, porque su presencia e intensidad puede modificar la respuesta al tratamiento⁽²⁷⁾. En esta investigación se encontraron valores similares para RE y RP, aunque la cantidad de casos negativos para RP fue ligeramente mayor, principalmente en los carcinomas ductales poco diferenciados, el número de casos con positividad

marcada (>70 %) fue menor y el 20,93 % de los casos mostró una positividad moderada.

Diversos estudios relacionan la presencia de receptores hormonales con parámetros morfológicos, encontrando que factores favorables como el menor tamaño tumoral, la negatividad del compromiso de los ganglios axilares y los grados nuclear e histológico bajos se asociaron de manera decreciente con los grupos de tumores clasificados como RE+/RP+, RE+/RP-, RE-/RP+, y RE-/RP-. Con respecto a la relación con características inmunohistoquímicas los tumores RE+/RP+, RE+/RP- y RE-/RP+ se comportan de manera similar, mientras que las neoplasias RE-/RP- se diferencian del resto por una menor expresión de bcl-2 y mayor expresión de p53 y de Ki-67. Todos estos factores se relacionan con la respuesta al tratamiento y la tasa de supervivencia global^(27,32,33), sin embargo, en este estudio no se cuenta con el seguimiento clínico de las pacientes para poder comprobarlo.

La mayoría de los casos de carcinoma ductal infiltrante bien diferenciado fueron *c-erbB-2* negativos (81,48 %), su ausencia se relaciona directamente con un mejor comportamiento biológico⁽³⁴⁾. La asociación entre la sobreexpresión de *c-erbB-2* y un comportamiento biológico agresivo, y su relación con tumores poco diferenciados está bien establecida⁽³⁵⁻³⁷⁾. Se encontró una diferencia substancial en la expresión de *c-erbB-2* en tumores poco diferenciados respecto a lo reportado en la literatura, pues en el 48,43 % de los casos fue negativa, esto puede deberse a la presencia de otros factores de proliferación celular relacionados con el *c-erbB-2* que pueden actuar por la activación de la tirosin quinasa⁽³⁸⁾. Esta diferencia no puede ser atribuida al método utilizado, porque la utilidad de la inmunohistoquímica en la identificación del oncogén *c-erbB-2* es comparable a la observada con otras técnicas más sofisticadas^(39,40).

La presencia de Ki-67 fue estadísticamente significativa en los carcinomas ductales

infiltrantes poco diferenciados, encontrando positividad en más del 70 % de las células en un 40,37 % de los casos, y positividad moderada en la mayoría (55,56 %). También se observó una correlación con la expresión del Ki-67 y la actividad mitótica elevada. En la mayoría de los tumores moderadamente diferenciados también hubo expresión variable de Ki-67 (86,11 %). Se debe hacer notar que la positividad de Ki-67 igual o mayor al 20 % se considera indicativa de alta actividad proliferativa y mal pronóstico^(27,41), además se detecta en los tipos histológicos más agresivos y es inversamente proporcional a la presencia de receptores hormonales⁽⁴²⁻⁴⁴⁾.

Se puede establecer una relación directa entre los carcinomas poco diferenciados, el índice mitótico y la expresión de Ki-67, no así para los carcinomas bien y moderadamente diferenciados. Estos hallazgos son consistentes con los reportados por Hamana y Bianchi⁽²⁰⁾, quienes demostraron una correlación directa entre las mismas, y al mismo tiempo aseveran que el conteo mitótico es, por sí mismo, un factor pronóstico valedero.

La expresión de receptores hormonales en el carcinoma lobulillar infiltrante difiere de la reportada para el carcinoma ductal infiltrante, según la investigación realizada por Zhao y col.⁽⁴⁵⁾, el carcinoma lobulillar suele tener receptores hormonales positivos en la mayoría de los casos, con una mayor expresión de RP en comparación con el carcinoma ductal, dicha expresión no fue corroborada en este estudio, pues la mayoría de los casos tuvieron receptores hormonales negativos, e incluso, la ausencia de RP fue ligeramente menor que la de estrógenos. Todos los autores revisados concuerdan en la negatividad del carcinoma lobulillar infiltrante en la expresión de *c-erbB-2*^(27,33,35,45), esta afirmación fue compatible con los hallazgos en este estudio, donde se observó una negatividad absoluta para este oncogén. El Ki-67 fue negativo en la mayoría de los casos (76,92 %), lo que es de esperarse dado el bajo índice mitótico de este tumor⁽⁴⁶⁾.

Los carcinomas mucinosos puros son considerados tumores con un comportamiento favorable debido a su crecimiento lento, sin embargo, existe controversia respecto a su pronóstico debido a que diversos factores morfológicos, como el tamaño tumoral, la celularidad y la presencia de metástasis ganglionar linfática pueden implicar una mayor agresividad^(3,47).

En la mayoría de los casos se observaron RE y RP positivos de intensidad variable, lo que se relaciona con una respuesta positiva al tratamiento y mayor sobrevivencia⁽⁴⁸⁻⁵⁰⁾, mientras un tercio de ellos (33,33 %) fueron negativos. La expresión de *c-erbB-2* fue predominantemente negativa, sin embargo, el porcentaje de casos con cierta positividad (15,38 %) supera al descrito en la literatura para estos tumores⁽⁴⁾. La expresión de Ki-67 fue variable y no estaba relacionada con el índice mitótico.

Los casos de carcinoma intraductal evaluados presentaban, en su mayoría, receptores hormonales negativos (57,17 %). La expresión de Ki-67 mostró una positividad variable y predominantemente positiva, estos hallazgos se pueden relacionar con la frecuencia del componente de tipo comedocarcinoma en las muestras evaluadas y sugieren un comportamiento más agresivo, como aseguran

Iwase y Holland^(51,52), en dos estudios diferentes, donde concluyen que el factor determinante en el comportamiento del carcinoma intraductal depende de la presencia de comedocarcinoma y que este define la presencia de los marcadores biológicos. La positividad para *c-erbB-2* también coincidió con la frecuencia de comedocarcinoma, su presencia e intensidad también se relaciona con las lesiones de grado histológico desfavorable⁽⁵³⁾.

El carcinoma de la glándula mamaria, debido a su frecuencia, representa un problema de salud pública tanto en Venezuela como en el mundo y las investigaciones encaminadas a mejorar el conocimiento sobre sus factores de riesgo, diagnóstico, características morfológicas y tratamiento se traducirán en la aplicación de tratamientos cada vez más efectivos y específicos, mejorando la sobrevivencia de las pacientes. Entre los elementos indispensables para el estudio del carcinoma mamario, los métodos inmunohistoquímicos representan una herramienta fundamental para establecer parámetros necesarios en el diagnóstico y pronóstico de los mismos. Por otra parte, hay que señalar que se deben realizar campañas institucionales más enérgicas orientadas hacia la detección precoz de esta enfermedad.

REFERENCIAS

1. Page O. The Breast Clinic, Breast Cancer. 2000. Disponible en: URL:<http://www.thebreastclinic.com>
2. Cotram R, Kumar V, Collins T. Robbins. Patología estructural y funcional. México DF: Mc Graw-Hill Interamericana Editores, SA de CV; 2000:1146-1164.
3. Rosen P. Rosen's Breast Pathology. Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001:249-364.
4. Rosen P, Oberman H. Atlas of Tumor Pathology: Tumors of the mammary gland. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology. 1993:157-257.
5. Bloom H, Richardson W. Histological grading and prognosis in breast cancer. Cancer. 1957;11:359-377.
6. Elston W, Wellis I. Pathological prognostic factors in breast cancer. The value of histological grade in breast cancer: Experience from a large study with long-term follow. Histopathology. 1991;19:403-410.
7. Shahid Siddiqui M. Breast Cancer: Determination,

- investigation and control. *JPMa Pak Med Assoc*. 2000;50(6):73-74.
8. Cerdera A, Ferrini S, Cerdera S, Piuizzi M. Incidencia del cáncer de mama en nuestra población. Estudio preliminar. *Rev Facult Med UNNE*. 2003;21(1):12-14.
 9. Tavassoli F. *Pathology of the Breast*. Connecticut: Appleton & Lange; 1992:229-333.
 10. Li C, Anderson B, Daling J, Moe R. Trends in incidence rates of invasive lobular and ductal breast carcinomas. *JAMA*. 2003;289(24):1421-1424.
 11. Li C, Malone K, Porte P, Weiss N, Tang M, Cushing-Haugen T, et al. Relationship between long duration and different regimens of hormone therapy and risk of breast cancer. *JAMA*. 2003;289(24):3254-3263.
 12. Adsay N, Merati K, Nassar H, Shia J, Sarkar F, Pierson C, et al. Pathogenesis of colloid (pure mucinous) carcinoma of exocrine organs: Coupling of gel-gorming mucin (MUC2) production with altered cell polarity and abnormal cell-stroma interaction may be the key factor in the morphogenesis and indolent behavior of colloid carcinoma in the breast and pancreas. *Am J Surg Pathol*. 2003;25(5):571-578.
 13. Dupont E, Ku N, McCaan C, Cox C. Ductal carcinoma in situ of the breast. *Cancer Control J*. 2002;6(3):168-174.
 14. Kate J. Molecular biological tools in the diagnostic and prognosis of mammary carcinoma. *Ned Tijdschr Klin Chem*. 1995; 20(6):311-313.
 15. Armes J, Egan A, Southey M, Dite G, McCredie M, Giles G, et al. The histological phenotypes of breast carcinoma occurring before age 40 years in women with and without BCRA1 or BCRA2 germ line mutations: Apopulation based study. *Cancer*. 1998;83(11):2335-2345.
 16. Li C, Anderson B, Porter P, Holt S, Daling J, Moe R. Changing incidence rate of invasive lobular breast carcinoma among older women. *Cancer*. 2000;88(11):2569-3569.
 17. Rosai J. *Ackerman's Surgical Pathology*. St. Louis: Mosby; 1998:288-350.
 18. Shinichi T, Ohno S, Murakami S, Kataoka A, Kinoshita J, Hachitanda Y. Histological classification of invasive ductal carcinoma and the biological parameters in breast cancer. *Breast Cancer*. 2003;10(2):149-152.
 19. Walsh M, Bleiweiss I. Invasive micro papillary carcinoma of the breast: Eighty cases of an under recognized entity. *Hum Pathol*. 2001;32(6):583-589.
 20. Hamana L, Bianchi G. Expresión de PCNA y Ki-67 en el adenocarcinoma ductal infiltrante de la mama; relación con actividad mitótica y variables morfológicas. *Rev Venez Oncol*. 2003;15(3):148-156.
 21. Volpi A, Bacci F, Paradiso A, Saragoni L, Scarpi E, Ricci M, et al. Prognostic relevance of histological grade and its components in node-negative breast cancer patients. *Mod Pathol*. 2004;17(9):1038-1044.
 22. Medri I, Volpi A, Nanni O, Vecchi A, Mangia A, Schittulli F, et al. Prognostic relevance of mitotic activity in patients with node-negative breast cancer. *Mod Pathol*. 2003;16(11):1067-1075.
 23. Wolberg W, Street W, Mangasarian O. Importance of nuclear morphology in breast cancer prognosis. *Clin Cancer Res*. 1999;5(11):3542-3548.
 24. Yang W, Mori I, Sakurai T, Yoshimura G, Suzuma T, Nakamura Y, et al. Correlation between nuclear grade and biological prognostic variables in invasive breast cancer. *Breast Cancer*. 2001;8:105-110.
 25. Hasebe T, Sasaki S, Imoto S, Ochiai A. Histological characteristics of tumor in vessels and lymph nodes are significant predictors of progression of invasive ductal carcinoma of the breast: A prospective study. *Hum Pathol*. 2004;35:298-308.
 26. Sinn H, Anton H, Magener A, von Fournier D, Bastert G, Otto H. Extensive and predominant in situ component in breast carcinoma: Their influence on treatment results after breast-conserving therapy. *Eur J Cancer*. 1998;34(5):646-653.
 27. Guix M, Cerdón C, Cañadas M, Colomer A, Puig X. Marcadores de pronóstico en el carcinoma de mama. *Clin Invest Gin Obst*. 1998;25(2):27-43.
 28. Mann S, Laucirica R, Carlson N, Younes P, Ali N, Younes A, et al. Estrogenic receptor beta expression in invasive breast cancer. *Hum Pathol*. 2001;32(1):113-117.
 29. Gruveberger S, Ringnér M, Chen Y, Panavally S, Saal L, Borg A, et al. Estrogen receptor status in breast cancer is associated with remarkably distinct gene expression patterns. *Cancer Res*. 2001;61:5979-5984.
 30. Putti T, Abd El-Rehim D, Rakha E, Paish C, Lee A, Pinder S, et al. Estrogen receptor-negative breast carcinomas: A review of morphology and immunophenotypical analysis. *Mod Pathol*. 2004;8:1-10.
 31. Scawn R, Shousha S. Morphologic spectrum of estrogen receptor-negative breast carcinoma. *Arch*

- Pathol Lab Med. 2002;126(3):325-330.
32. Sunblad A, Capralulo L. Características inmuno-histoquímicas de los carcinomas de mama con receptores negativos para estrógenos y positivos para progesterona. *Medicina*. 1996;56(6):683-689.
 33. Szakacs J, Arroyo J, Girgenti A. Assessment of results of estrogen and progesterone receptor assays performed in a community hospital. *Ann Clin Lab Sci*. 1986;16(4):266-273.
 34. Hoff R, Tubbs R, Myles J, Procop H. HER2/neu amplification in breast cancer. Stratification by tumor type and grade. *Ann J Clin Pathol*. 2002;117:916-921.
 35. Bacus S, Bacus J, Slamon D, Press M. Her-2/neu oncogene expression and DNA ploidy analysis in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 1990;114:164-169.
 36. Slamon D, Godolphin W, Jones L, Holt J, Wong S, Keith D. Studies of the HER-2/neu proto-oncogen in human breast cancer. *Cancer Cells*. 1989;7:371-384.
 37. Kallioniemi O, Holli K, Visakorpi T, Koivula T, Helin H, Isola J. Association of c-erb-2 protein over expression with high rate of cell proliferation, increased risk of visceral metastasis and poor long-term survival in breast cancer. *Int J Cancer*. 1991;49:650-655.
 38. Bhargava R, Naeem R, Marconi S, Luszcz J, Garb J, Gasparini R, et al. Tyrosine kinase activation in breast carcinoma with correlation to HER-2/neu gene amplification and receptor over expression. *Hum Pathol*. 2001;32(12):1344-1350.
 39. Hanna W, Kahn H, Pienkowska M, Blondal J, Seth A, Marks A. Defining a test for HER2/neu evaluation in breast cancer in the diagnosis setting. *Mod Pathol*. 2001;14:677-685.
 40. Roman V, Martinez R. Comparative assays for the HER-2/neu oncogen status in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2004;128(6):627-633.
 41. Veronese S, Gambacorta M. Detection of Ki- 67 proliferation rate in breast cancer. *Am J Clin Pathol*. 1991;95:30-34.
 42. Landberg G, Ross G. Proliferating cell nuclear antigen and Ki67 antigen expression in human hematopoietic cells during growth stimulation and differentiation. *Cell Prolif*. 1993;26:427-437.
 43. Isola J, Helin H, Helle M, Kalliomeni O. Evaluation of cell proliferation in breast carcinoma. Comparison of Ki-67 immunohistochemical study, DNA flow cytometric analysis and mitotic count. *Cancer*. 1990;65:1180-1184.
 44. Barbareschi M, Girlando S, Mauri F, Forti F, Ecche C, Mauri F. Quantitative growth fraction evaluation with MBI1 and KI67 antibodies in breast carcinomas. *Am J Clin Pathol*. 1994;102:171-175.
 45. Zhao H, Langerod A, Ji Y, Nowels K, Nesland J, Tibshirani R, et al. Different gene expression patterns in invasive lobular and ductal carcinomas of the breast. *Molec Biol Cell*. 2003;15(6):2523-2536.
 46. Grazia A, Bardou V, Clark G, Elledge R. Infiltrating lobular carcinoma of the breast: Tumor characteristics and clinical outcome. *Breast Cancer Res*. 2004;6(3):149-156.
 47. Clayton F. Pure mucinous carcinoma of breast. Morphologic features and prognostic correlates. *Hum Pathol*. 1986;17:34-38.
 48. Coaday A, Shousha S, Dawson P, Moss M, James K, Bull T. Mucinous carcinoma of the breast: Further characterization of its three subtypes. *Histopathol*. 1989;15:617-626.
 49. Weiss M, Fowble B, Solin I, Yeh I, Schultz D. Outcome of conservative therapy for invasive breast cancer by histologic subtype. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1992;23(5):941-947.
 50. Avisar E, Khan E, Axelrod D, Oza K. Pure mucinous carcinoma of the breast: A clinic pathologic correlation study. *Ann Surg Oncol*. 1988;5(5):447-451.
 51. Iwase H, Ando Y, Ichihara S, Totoshima S, Nakamura T, Nakamura T, et al. Immunohistochemical analysis on biological markers in ductal carcinoma in situ of the breast. *Breast Cancer*. 2001;8:98-104.
 52. Holland R, Peterse J, Millis R, Eusebi V, Faverly D, van der Vijver M, et al. Ductal carcinoma in situ: A proposal for a new classification. *Sem Diag Pathol*. 1994;11(3):167-180.
 53. Suárez C, Maissi S, Parada D, Mijares A, Navas H, Gómez A, et al. Inmunohistoquímica y carcinoma mamario in situ. *Rev Venez Oncol*. 2002;14(2):351-354.