

UNIVERSIDAD CAMILO JOSÉ CELA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

FACULTAD DE SALUD



Tesis Doctoral

**RELACIÓN DEL PERFIL GENÓMICO CON ASPECTOS
CLÍNICOS E HISTOLÓGICOS DEL CÁNCER DE
MAMA EN LA ZONA 8 DE ECUADOR (2014-2017)**

AUTOR

Lourdes González-Longoria Boada

DIRECTOR

Dr. Francisco López Muñoz, PhD.

TUTOR

Dr. Francisco López Muñoz, PhD.

Madrid, 2023



**ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
FACULTAD DE SALUD**

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

TESIS DOCTORAL

**RELACIÓN DEL PERFIL GENÓMICO CON ASPECTOS
CLÍNICOS E HISTOLÓGICOS DEL CÁNCER DE
MAMA EN LA ZONA 8 DE ECUADOR (2014-2017)**

AUTOR:

Lourdes González-Longoria Boada

DIRECTOR

Dr. Francisco López Muñoz

TUTOR

Dr. Francisco López Muñoz

Madrid, 2023

Universidad Camilo José Cela
Escuela Internacional de Doctorado
Facultad de Salud
Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

**RELACIÓN DEL PERFIL GENÓMICO CON ASPECTOS
CLÍNICOS E HISTOLÓGICOS DEL CÁNCER DE
MAMA EN LA ZONA 8 DE ECUADOR (2014-2017)**

Tesis doctoral presentada por Lourdes González-Longoria Boada, para optar al grado de Doctor por la Universidad Camilo José Cela (Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud).

Director

Francisco López Muñoz, Doctor en Medicina (PhD)

Tutor

Francisco López Muñoz, Doctor en Medicina (PhD)

Madrid, 2023

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

D. FRANCISCO LÓPEZ MUÑOZ, DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA Y PROFESOR TITULAR DE LA FACULTAD DE SALUD DE LA UNIVERSIDAD CAMILO JOSÉ CELA, MADRID.

CERTIFICA

Que, Dña. Lourdes González-Longoria Boada, licenciada en Medicina por el Instituto Superior de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba (actual Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba), ha realizado bajo mi dirección el trabajo de investigación titulado "*RELACIÓN DEL PERFIL GENÓMICO CON ASPECTOS CLÍNICOS E HISTOLÓGICOS DEL CÁNCER DE MAMA EN LA ZONA 8 DE ECUADOR (2014-2017)*". Considero que se trata de un trabajo bien elaborado, de actualidad, y que reúne todas las condiciones necesarias y de calidad suficientes, por lo que autorizo a ser defendido en lectura pública como TESIS DOCTORAL.

En Madrid, a 4 de octubre de 2022.



Dr. D. Francisco López Muñoz



AGRADECIMIENTO

A mi tutor y director, por la confianza que depositó en mí para llevar a cabo esta investigación. Sin su paciencia, sus consejos, sus ideas para escribir, sus palabras de aliento, no hubiera logrado terminar mi trabajo.

A los asesores, por formar parte importante de esta investigación con la profesionalidad que los caracteriza.

A la Universidad Camilo José Cela, por permitir mi formación científica, así como a los docentes de dicha institución que colaboraron en mi formación.

Al Hospital de Especialidades Guayaquil Dr. Abel Gilbert Pontón, por permitirme realizar dicho trabajo.

A las instituciones donde trabajé y a mis compañeros, por su apoyo, por ser parte de la columna vertebral de mi día a día.

A mis padres, por formarme como ser humano en beneficio de la humanidad. Siempre han estado a mi lado en los días y noches difíciles de estudio, apoyándome en todo lo que me he propuesto. Gracias por siempre creer en mí.

Gracias a Dios por bendecir la Sanidad de la Humanidad.

DEDICATORIA

A los pacientes que depositan la confianza de ser tratados por los médicos y que no pierden las esperanzas de mejorarse o curarse.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pag.
AGRADECIMIENTO	iv
DEDICATORIA	v
ÍNDICE DE CONTENIDO	vi
LISTADO DE ABREVIATURAS Y SIGLAS	ix
LISTADO DE CUADROS	x
LISTADO DE ILUSTRACIONES	x
LISTADO DE TABLAS	x
LISTADO DE FIGURAS	xi
LISTADO DE ANEXOS	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 El cáncer.....	1
1.2 Anatomía e histología de la mama normal.....	5
1.3 Neoplasia mamaria: Epidemiología	8
1.4 Factores de riesgo y prevalencia del cáncer de mama	10
1.5 Características clínicas del cáncer de mama	13
1.5.1 Metástasis y mecanismos de invasión.....	15
1.6 Diagnóstico del cáncer de mama.....	16
1.7 Prevención del cáncer de mama	20
1.8 Aspectos histológicos del cáncer de mama.....	21
1.8.1 Carcinoma no invasivo.....	22
1.8.2 Carcinoma invasivo.....	25
1.9 Bases moleculares del cáncer de mama	26
1.9.1 Receptores esteroides	29
1.9.2 Receptores de crecimiento	30
1.10 Factores pronósticos	31
1.11 Estrategias terapéuticas	33
1.12 Planteamiento del problema.....	35

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS.....	37
2.1 Hipótesis de trabajo.....	37
2.2 Pregunta de investigación	37
2.3 Objetivos	37
2.3.1 Objetivo general.....	37
2.3.2 Objetivos específicos	37
3. METODOLOGÍA	39
3.1 Población de estudio	39
3.2 Criterios inclusión y exclusión.....	39
3.2.1 Criterios de inclusión	39
3.2.2 Criterios de exclusión.....	40
3.3 Variables del Estudio	40
3.3.1 Variable principal.....	40
3.3.2 Variables secundarias.....	41
3.4 Diseño del estudio	41
3.5 Análisis estadístico.....	43
3.6 Consideraciones éticas	43
4. RESULTADOS.....	47
4.1 Características básicas del grupo de estudio	47
4.2 Características morfológicas de los tumores.....	48
4.3 Hallazgos inmunohistoquímicos sobre subtipificación molecular y variables pronósticas	49
4.4 Asociación entre los subtipos moleculares del carcinoma de mama y las variables pronósticas conocidas	51
4.5 Asociaciones entre variables morfológicas.....	55
5. DISCUSIÓN GENERAL.....	61
5.1 El tipo histológico del cáncer de mama	62
5.2 La propagación local del tumor.....	64

5.3 La evaluación del estado de los ganglios linfáticos axilares.....	66
5.4 Grado histológico	68
5.5 Expresión de los receptores de estrógeno y progesterona.....	69
5.6 Actividad de proliferación por Ki-67	70
5.7 Sobreexpresión de HER2 y la amplificación del gen HER2/neu.....	71
5.8 Inmunohistoquímica y subtipo molecular de cáncer de mama	72
5.9 Edad y subtipo molecular	74
5.10 Aportaciones y relevancia que supone el estudio para la práctica clínica	76
5.11 Limitaciones del estudio	78
6. CONCLUSIONES.....	81
7. BIBLIOGRAFÍA.....	83
8. ANEXOS	107

LISTADO DE ABREVIATURAS Y SIGLAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico	IHQ: Inmunohistoquímica
ASCO: Sociedad Estadounidense de Oncología Clínica	MSP: Ministerio de Salud Pública Ecuatoriano
AVAD: Años de vida ajustados por discapacidad	N0: Ganglios linfáticos no metastásicos
BC: <i>Breast cancer</i>	Nx: Ganglios linfáticos indeterminados
BCL: Marcador antiapoptótico	OMS: Organización Mundial de la Salud
BRCA1: Gen del cáncer del seno 1	PSN: Polimorfismo de un solo nucleótido
BRCA2: Gen del cáncer del seno 2	RE: Receptor de estrógeno
CNA: Aberraciones del número de copias	RH: Receptores hormonales
CDI: Carcinoma ductal invasivo	RMN: Resonancia magnética nuclear
CDIS: Carcinoma ductal invasivo <i>in situ</i>	RP: Receptor de progesterona
CISH: Hibridación cromogénica <i>in situ</i>	SERM: Moduladores selectivos de los receptores de estrógeno
CLIS: Carcinoma lobulillar <i>in situ</i>	SISH: Hibridación <i>in situ</i> basada en Plata
CM: Cáncer de mama	TNM: Sistema de estadificación de cáncer
CT: Células tumorales	T_{número}: Tamaño del tumor
DE: Desviación estándar	TP53: Proteína tumoral 53
DT: Detección temprana	UICC: Unión Internacional Contra el Cáncer
FISH: Hibridación <i>in situ</i> fluorescente	ULCT: Unidad lobulillar del conducto terminal
FR: Factores de riesgo	VNC: Variante de número de copia
GLOBOCAN: Observatorio Global de Cáncer	VSN: Variante de un solo nucleótido
G_{número romano}: Grado histológico tumoral	
IA: Inhibidores de la aromatasa	
IHC: <i>Immunohistochemical</i>	

LISTADO DE CUADROS

Cuadro 1. Factores de riesgo del cáncer de mama.....	11
Cuadro 2. Subtipos del cáncer de mama.....	28
Cuadro 3. Descripción de las alteraciones genómicas.....	29

LISTADO DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Esquema del componente epitelial de la mama.....	6
Ilustración 2. Cambios en la mama, en relación con el cáncer.....	14
Ilustración 3. Proceso metastásico del cáncer	16
Ilustración 4. Tipos de diagnóstico para el cáncer de mama	18
Ilustración 5. Factores de prevención del cáncer de mama.....	20
Ilustración 6. Origen/evolución del carcinoma de mama no invasivo.....	24
Ilustración 7. Función de los receptores de los factores de crecimiento.....	31
Ilustración 8. Pronóstico del cáncer de mama	32
Ilustración 9. Tipos de terapias para el cáncer de mama.....	33

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Distribución de las características morfológicas de los tumores.....	48
Tabla 2. Características clínico-patológicas de los subtipos moleculares de cáncer de mama.....	50
Tabla 3. Distribución molecular de los tumores.....	51

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Distribución por edad de los pacientes.....	47
Figura 2. Relación entre el tamaño del tumor y los subtipos moleculares de cáncer de mama.....	52
Figura 3. Relación entre el estado ganglionar y los subtipos moleculares de cáncer de mama.....	53
Figura 4. Relación entre el grado histológico y los subtipos moleculares de cáncer de mama.....	54
Figura 5. Relación entre el tamaño del tumor y el estado ganglionar del cáncer de mama.....	56
Figura 6. Relación entre el tamaño del tumor y el grado histológico del cáncer de mama.....	57
Figura 7. Relación entre el estado ganglionar y el grado histológico del cáncer de mama.....	58
Figura 8. Recomendaciones de tratamiento sistémico según el subtipo molecular de cáncer de mama.....	77

LISTADO DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Aval del Comité de Investigación y Ética.....	108
Anexo 2. Acuerdo de confidencialidad.....	109
Anexo 3. Aprobación para el acceso de información.....	113
Anexo 4. Estudios publicados.....	114

RESUMEN

Antecedentes y Objetivo: La mortalidad por cáncer de mama (CM) es un problema que enfrenta la Salud Pública a nivel mundial. El éxito del tratamiento depende en gran medida de las características clínico-histológicas del CM. Los subtipos moleculares de la neoplasia mamaria por inmunohistoquímica (IHQ) se han convertido en un factor crucial para obtener mejores resultados en las intervenciones terapéuticas de esta enfermedad. Estos permiten establecer grupos pronósticos, como apoyo en la decisión de tratamientos individuales efectivos. Sin embargo, la información existente es limitada sobre la relación entre estos aspectos y los subtipos moleculares del cáncer. El objetivo del estudio fue determinar la relación, relevancia y prevalencia entre las características clínico-patológicas e histológicas con los subtipos moleculares de CM en pacientes ecuatorianas.

Metodología: Se realizó un estudio retrospectivo en 199 pacientes femeninas con diagnóstico histopatológico de cáncer de mama y estudios de IHQ, atendidas en el hospital Abel Gilbert Pontón, de la ciudad de Guayaquil, Ecuador, de enero de 2014 a diciembre de 2017.

Resultados: La edad media de los pacientes fue de $56,77 \pm 11,96$ años. Se observaron metástasis ganglionares en el 63,3% de los casos. El tamaño medio del tumor fue de $3,88 \pm 1,61$ cm. Más de la mitad de los casos (56,8%) presentaron un grado histológico moderadamente diferenciado. El carcinoma luminal A es el tumor más prevalente (53,8%) en la población ecuatoriana. El estado ganglionar se presentó con mayor frecuencia con metástasis en 1 a 3 ganglios axilares (39,7%). La mayoría de los pacientes presentaron un tamaño tumoral $>2 \leq 5$ cm (71,9%) y especificaciones moderadamente diferenciadas (56,8%). El análisis demostró una asociación significativa ($p < 0,0001$) entre subtipos moleculares y las características clínico-patológicas e histológicas del CM.

Conclusiones: La neoplasia mamaria en las pacientes ecuatorianas se diagnostica en estadios avanzados. El estudio enfatiza en la necesidad de introducir las pruebas de receptores IHQ en la práctica clínica para ayudar y determinar la biología del CM, mejorar el efecto sobre la terapia y el pronóstico del paciente. La clasificación de

subtipos moleculares permite proporcionar tratamientos personalizados para cada subgrupo tumoral. Se determinó que la clasificación de los subtipos moleculares por IHQ es clínicamente útil. Por este motivo, una evaluación estandarizada y reproducible de estos marcadores es sumamente eficaz para tomar una decisión terapéutica en el tratamiento de cáncer de mama, toda vez que se consideran los recursos del sistema de Salud Pública, pues son limitados y finitos.

Palabras clave: Cáncer de mama; Biomarcadores; Pronóstico; Mortalidad; Salud Pública; Terapéutica; Patología; Histología.

ABSTRACT

Background and Objective: Mortality due to breast cancer (BC) is a problem that Public Health faces worldwide. The success of the treatment depends largely on the clinic-histological characteristics of the BC. Immunohistochemical (IHC) breast neoplasia subtypes have become a crucial factor in obtaining better results in therapeutic interventions for this disease. These allow establishing prognostic groups, as support in the decision of effective individual treatments. However, there is limited information on the relationship between these aspects and immunohistochemical (IHC) subtypes of cancer. The objective of the study was to determine the relationship, relevance, and prevalence between clinicopathological and histological characteristics with IHC subtypes of BC in Ecuadorian patients.

Methodology: A retrospective study was carried out in 199 female patients with a histopathological diagnosis of breast cancer and IHC studies, treated at the Abel Gilbert Ponton Hospital, in the city of Guayaquil, Ecuador, from January 2014 to December 2017.

Results: The mean age of the patients was 56.77 ± 11.96 years. Lymph node metastases were observed in most cases (63.3%). The mean size of the tumor was 3.88 ± 1.61 cm. More than half of the cases (56.8%) presented a moderately differentiated histological grade. Luminal A carcinoma is the most prevalent tumor (53.8%) in the Ecuadorian population. The nodal status presented more frequently with metastases in 1 to 3 axillary nodes (39.7%). Most of the patients presented a tumor size $>2 \leq 5$ cm (71.9%) and moderately differentiated specifications (56.8%). The analysis showed a significant association ($p < 0.0001$) between IHC subtypes and clinicopathological and histological characteristics of BC.

Conclusions: BC in Ecuadorian patients is diagnosed in advanced stages. The study emphasizes the need to introduce IHC receptor tests in clinical practice to help determine the biology of BC, improve the effect on therapy and the patient's prognosis. The classification of molecular subtypes makes it possible to provide personalized treatments for each tumor subgroup. Molecular subtyping by IHC was found to be

clinically useful. Therefore, a standardized and reproducible evaluation of these markers is highly effective for making a therapeutic decision in the treatment of BC, since the resources of the Public Health system are considered, since they are limited and finite.

Keywords: Breast cancer; biomarkers; forecast; Mortality; Public health; Therapy; Pathology; Histology.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 El cáncer

El cáncer es una enfermedad devastadora que afecta a millones de personas en todo el mundo. Se estima que en 2020 se diagnosticaron 19,3 millones de nuevos casos de cáncer y casi 10 millones de muertes debidas a esta patología⁽¹⁾. El cáncer es una enfermedad caracterizada por una alteración compleja de factores genéticos y ambientales que conducen al crecimiento anormal de células en el cuerpo⁽²⁾. Este crecimiento celular descontrolado puede provocar la formación de tumores y la propagación del cáncer a otras partes del cuerpo.

Sobre lo anterior, una de las características clave del cáncer es la mutación de los genes que controlan el crecimiento y la división celular^(2, 3). Se sabe que los eventos mutagénicos que afectan al material genético de una célula causan la desregulación de las vías que gobiernan los procesos más fundamentales del ciclo celular⁽⁴⁾. Específicamente, la aparición de condiciones cancerosas se debe a una acumulación de múltiples mutaciones genéticas que conducen a la desregulación de las vías de señalización que controlan el crecimiento celular, la apoptosis (muerte celular programada) y la reparación del ADN^(5, 6). Una vez que estas vías se transforman para eliminar los efectos de los controles celulares, las células cancerosas pueden proliferar y crecer en ausencia de las restricciones normales.

De esta manera, se demuestra que existen ciertos mecanismos comunes por los cuales las células normales se transforman en cancerosas, y que estos mecanismos se ven reforzados por la identificación constante de puntos específicos de mutación en el genoma humano. De hecho, las mutaciones genéticas pueden tener lugar en genes prooncogénicos, como RAS y MYC, o en genes supresores de tumores, como el gen del cáncer de mama 1 (BRCA1), gen del cáncer de mama 2 (BRCA2) y proteína tumoral 53 (TP53)^(7, 8, 9, 10). Aunque, generalmente el desarrollo del cáncer requiere la acumulación de múltiples aberraciones genéticas⁽¹¹⁾. En relación a esto último, se ha

intentado clasificar los genes cruciales para la carcinogénesis en clases específicas mediante el estudio de fenotipos cancerosos en modelos experimentales. Así, se ha llegado a proponer dos clases de genes específicos; el primero, causado por la acumulación de oncogenes activados, y, el segundo, por genes supresores de tumores inactivados que posteriormente confieren los atributos anormales que caracterizan a las células cancerosas^(12, 13, 14, 15). En cualquier caso, los protooncogenes, que son precursores de los oncogenes, se ven alterados por mutaciones dominantes, lo que confiere a una célula normal una ganancia de función, como la proliferación (estos genes específicos que se sabe que mejoran la capacidad proliferativa de las células se denominan oncogenes en su forma mutada), mientras que los genes supresores de tumores, por otro lado, se alteran e inhiben.

Como resultado de mutaciones en ambas clases de genes, los procesos celulares fundamentales, como el metabolismo, el crecimiento, la proliferación y la muerte, se alteran en las células cancerosas^(16, 17). Estas vías alteradas dan a las células cancerosas la capacidad de crecer en número, formando de esta manera tumores en el sitio local. Las células pueden crecer sin control al evitar los efectos reguladores de los múltiples mecanismos presentes en una célula que están controlados por protooncogenes clave y genes supresores de tumores^(5, 18). Otra de las capacidades de las células cancerosas es que viajan e invaden otros órganos y tejidos del cuerpo.

Por tal motivo, se han hecho intentos recientes para organizar la progresión del cáncer en categorías distintas y bien definidas. Por ejemplo, Myszczyzyn *et al.*⁽¹⁹⁾ afirman que ciertas características patológicas caracterizan al cáncer; entre ellas, la angiogénesis, la proliferación/mitogénesis, la supervivencia/resistencia a la apoptosis, el aumento de la invasividad y el potencial metastásico, el metabolismo glucolítico y la acidosis extracelular. Por su parte, Onyekachi *et al.*⁽²⁰⁾, Rodrigues *et al.*⁽²¹⁾ y Uthamacumaran⁽²²⁾ establecen que todos los genotipos de cáncer presentan alteraciones fundamentales en la fisiología celular. Proponen que quizás todos los tipos de cánceres humanos dependen de alteraciones en la fisiología celular que confieren autonomía de las señales de crecimiento externas, insensibilidad a las señales de anticrecimiento, evitación mecánica de la apoptosis, potencial proliferativo ilimitado,

angiogénesis e invasión de tejidos extraños a través de las paredes capilares y las membranas basales (metástasis). En todo caso, varios estudios describen al cáncer como un estado de enfermedad condicionada por un mínimo de seis pasos principales de desarrollo: la señalización proliferativa, evadir los supresores del crecimiento, resistir la muerte celular, permitir la inmortalidad replicativa, inducir la angiogénesis, activar la invasión y la metástasis^(23, 24). Todo ello demuestra que estos modelos presentan algunas similitudes en las características del desarrollo del cáncer. Por ejemplo, cada modelo está de acuerdo en las ideas de la propagación hacia órganos y tejidos extraños. Aunque, la proliferación excesiva es quizás el fenotipo asociado con mayor frecuencia a la progresión del cáncer.

De cualquier manera, el camino que se sigue durante la oncogénesis es muy variado, ya que el cáncer, en general, se caracteriza por una patología heterogénea. Por ejemplo, la mutagénesis de oncogenes específicos y genes supresores de tumores puede ocurrir temprano en algunas vías de progresión tumoral y tarde en otras⁽²⁵⁾; o si bien todos los cánceres se pueden caracterizar por la adquisición de un conjunto de capacidades distintivas, los medios por los cuales se adquieren esos rasgos varían, tanto mecánicamente como incluso cronológicamente⁽²⁶⁾. La idea está en que el orden en que se adquieren los rasgos cancerosos puede contrastar entre la variedad de tipos y subtipos de cáncer que se han identificado, e incluso existe una amplia variación en la adquisición de capacidades entre tumores del mismo tipo. De hecho, algunas progresiones de metástasis pueden requerir un número diferente de pasos de desarrollo, ya que eventos genéticos específicos pueden conferir simultáneamente más de una capacidad a una célula cancerosa⁽²⁷⁾.

Por último, profundizando en lo antes mencionado, es importante entender que, durante el desarrollo de la mayoría de los cánceres, las células tumorales pueden abandonar el sitio de crecimiento primario e invadir los tejidos adyacentes. A este proceso se lo denomina la cascada de invasión-metástasis y es la consecuencia de la inestabilidad cromosómica provocada por continuos errores en la segregación cromosómica durante la mitosis. De ahí que las masas suelen pasar por una fase expansiva en ausencia de invasión, para luego pasar a una etapa de desmoplasia, donde

las células ya son pleiomórficas. Posteriormente, con generaciones sucesivas, surgen variantes y la selección cambia la composición de la población. Estos subconjuntos de células neoplásicas adquieren la capacidad de atravesar la membrana basal, siendo éste el sello distintivo de la malignidad. Como resultado, los subconjuntos de células invasivas luego adquieren la capacidad de desprenderse del tumor primario y moverse a otro lugar para formar metástasis⁽²⁸⁾. La adquisición de rasgos puede ocurrir en cualquier orden, pero la transición exitosa a malignidad requiere la adquisición de todos los rasgos neoplásicos. De hecho, la capacidad de las células para completar todos los pasos en la cascada metastásica les exige adquirir ciertas características que se superponen a las características distintivas del cáncer.

Sobre lo anterior, Paňková *et al.*⁽²⁹⁾ examinaron las diferentes formas de migración utilizadas por las células cancerosas para superar la matriz extracelular local y descubrieron que algunas células cancerosas pueden propagarse colectivamente como tejidos epiteliales al retener las uniones de célula a célula y otras pueden migrar individualmente. En este último, examinaron específicamente dos modos distintos de invasión y migración individual. Primero, la invasividad mesenquimatosa de las células tumorales individuales, que se caracteriza por la formación de pseudópodos principales que facilitan el movimiento a 0,1-0,5 micrómetros por minuto, y, segundo, las células cancerosas con movimiento de tipo ameboide, que se identifican por experimentar ciclos de expansión y contracción del cuerpo celular para moverse a través de espacios en la matriz extracelular a velocidades que van desde 2 micrómetros hasta 25 micrómetros por minuto. En comparación, los modos de movimiento mesenquimatoso y ameboide no se excluyen mutuamente, sino que las células cancerosas pueden cambiar rápidamente de un modo de invasividad a otro mediante la regulación de vías específicas. La diferencia clave entre los dos modos de invasión es que las células cancerosas que muestran movimiento ameboidal no necesariamente participan en la degradación de la matriz extracelular local. Más bien, las fuerzas mecánicas que causan los ciclos de contracción-relajación típicos del movimiento ameboide son lo suficientemente fuertes como para cambiar estructuralmente la misma, lo que permite que las células migren con facilidad. Este hallazgo fue interesante porque no estaba modificaba la idea generalizada de que la invasión de

células tumorales implica la proteólisis de la matriz extracelular local. Sin embargo, es necesario realizar más estudios para probar la viabilidad *in vivo* de la invasión independiente de proteinasa similar a ameboides. En cualquier caso, la metástasis no es un proceso aleatorio, sino que depende de algunas mutaciones genéticas con preferencia hacia algunos órganos diana.

1.2 Anatomía e histología de la mama normal

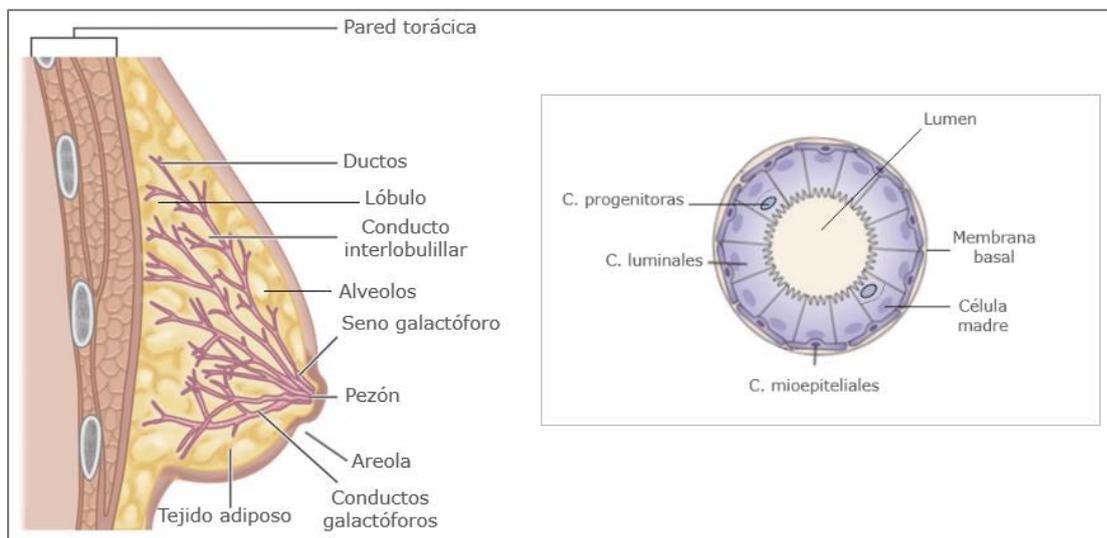
La glándula mamaria es un tejido dinámico con cambios vertiginosos en la estructura del tejido en respuesta a señales hormonales y que ocurren a lo largo de la vida del ser humano (mayores cambios en las mujeres). Esta glándula está compuesta por un árbol ductal epitelial incrustado dentro de una almohadilla de grasa estromal compuesta por una variedad de tipos de células que incluyen adipocitos, fibroblastos, células inmunes, células linfáticas y células vasculares, las cuales interactúan entre sí para mantener un órgano funcional⁽³⁰⁾. Al nacer, la glándula contiene una estructura ductal rudimentaria, por lo que la presencia de estrógeno en la pubertad hace que los conductos experimenten una morfogénesis ramificada, generando un árbol ductal que invade la almohadilla de grasa estromal^(31, 32). Ya en la edad adulta, especialmente en las mujeres, la mama descansa sobre el músculo pectoral mayor, del que está separada por la fascia pectoral. De hecho, se sitúa con el eje mayor en diagonal a la pared torácica y la extensión en la axila donde se localiza la cola de Spence. Los límites de la mama se podrían ubicar de la siguiente forma: a) lateralmente sobre el serrato anterior; b) inferiormente sobre el músculo oblicuo externo y la vaina del recto superior; y 3) medialmente limitado por el esternón.

La fascia superficial se continúa con la fascia cervical en la parte superior y con la fascia abdominal superficial de Cooper en la inferior. Los ligamentos suspensorios de Cooper, que anclan la piel y el pezón a la mama, son hebras fibrosas que se extienden desde la dermis hasta el parénquima. El espacio retromamario que contiene tejido areolar laxo está formado por el espacio comprendido entre la capa membranosa y la fascia del pectoral mayor y el serrato anterior. El músculo pectoral mayor se extiende hacia el espacio axilar piramidal en forma de cúpula para formar la fascia axilar. Estos

puntos de referencia anatómicos son importantes durante la disección para identificar procesos infiltrativos neoplásicos o inflamatorios.

El parénquima mamario se compone de 15 a 25 lóbulos basados en los principales conductos galactóforos que desembocan en el pezón⁽³³⁾. Cada lóbulo consta de una unidad morfofuncional compleja compuesta por la unidad lobulillar del conducto terminal (ULCT) y el sistema de conductos grandes. Los conductos grandes se ramifican en ULCT; el conducto terminal se ramifica aún más en un racimo de acinos similar a una uva para formar un lóbulo. La ULCT está incrustada en un estroma sensible a las hormonas de apariencia mixoide con ausencia de fibras elásticas, mientras que el conducto más grande está envuelto por tejido conectivo elástico menos sensible a las hormonas. El parénquima mamario tiene proporciones variables de grasa y estroma según la edad y la predisposición individual. La plasticidad sugiere regulación hormonal^(34, 35).

Ilustración 1. Esquema del componente epitelial de la mama.



Fuente: Desarrollado por la autora a partir de los estudios de Fu *et al.*⁽⁴¹⁾ y Jiménez-Gaona *et al.*⁽⁴²⁾.

El epitelio ductal mamario está compuesto por dos líneas celulares principales: la población luminal interna, que contiene células ductales y alveolares, y la población basal externa, que contiene células mioepiteliales (Ilustración 1)⁽³⁶⁾. La población basal está enriquecida con células capaces de autorrenovación. Estas células, conocidas

como células madre, carecen de marcadores de superficie celular únicos, lo que complica la cuantificación de la población de células basales masivas⁽³⁷⁾. Por otro lado, la población luminal interna contiene células progenitoras luminales en proliferación y células luminales maduras, las cuales se ven influenciadas cuando la mujer entra al estado de gestación⁽³⁸⁾. Las diferentes características entre la población basal y luminal pueden deberse a la dependencia de diferentes indicadores genéticos que marcan distintas poblaciones de células con potenciales de diferenciación discretas^(39, 40).

Durante el embarazo y la lactancia, la progesterona y la prolactina provocan ramificaciones laterales secundarias y terciarias extensas y la formación de unidades alveolares que producen y secretan leche. Se observa un aumento en el número de acinos secretores a medida que el conducto terminal prolifera bajo la influencia de las hormonas sexuales (estrógeno y progesterona). La prolactina, la somatomotropina coriónica humana, la tiroxina y los corticosteroides también juegan un papel importante en la proliferación de la mama. Los lobulillos se agrandan y los acinos se dilatan, mientras que los tabiques interlobulillares permanecen iguales. El epitelio de revestimiento es cuboideo, con células vacuoladas columnares bajas. El estroma intralobulillar no es tan prominente y muestra una entrada de linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos. Los acinos producen un líquido rico en proteínas llamado calostro, que los dilata aún más⁽⁴³⁾. Cuando ya se logra el destete del individuo se inicia el proceso de involución, que esencialmente remodela la glándula mamaria de regreso al estado normal^(44, 45). Si bien se nota una disminución en el tamaño de la mama, el número y tamaño de los lóbulos aumentará permanentemente.

Por último, la menopausia se asocia con una fuerte caída en los niveles de estrógenos y progesterona. Esta alteración hormonal se manifiesta en la mama con disminución de la celularidad y número de lóbulos, junto con atrofia epitelial. Se observa contracción, así como dilatación quística de los lóbulos. Del mismo modo, también se observa elastosis perivascular y periductal⁽⁴⁶⁾. La mama de las ancianas aparece radiotransparente.

1.3 Neoplasia mamaria: Epidemiología

El cáncer de mama (CM) es la neoplasia maligna más común y mortal en las mujeres de todo el mundo⁽⁴⁷⁾. Una de sus características más significativa es que tiende a ser metastásico, pues posee la capacidad de diseminarse a otros órganos como huesos, hígado, pulmones y cerebro. De ese análisis, se ha determinado que el CM puede ser curable en el 70-80% de las pacientes con CM no metastásico en estadio temprano. Sin embargo, en un estadio avanzado resulta prácticamente incurable siguiendo las terapias que se dispone hoy en día⁽⁴⁸⁾.

Se ha informado que el CM ocurre debido a eventos de transformación tanto genéticos como epigenéticos⁽⁴⁹⁾, es decir, a través de una progresión continua de alteraciones celulares y manifestaciones clínicas bien definidas, comenzando con hiperproliferación ductal, seguido de carcinoma *in situ* y/o invasivo, para llegar finalmente a enfermedad metastásica⁽⁵⁰⁾. En este último, la progresión tumoral posterior está impulsada por la acumulación de cambios genéticos adicionales, así como por la expansión y selección clonal. Como consecuencia, el cáncer de mama puede originarse en diferentes sitios de la mama, como los conductos, lóbulos o tejidos intermedios, por lo que hay diversos tipos de cáncer de mama que difieren en función de su invasividad, de acuerdo con el lugar de origen⁽⁵¹⁾. En particular, la mayoría de los CM comienzan en las células que recubren los conductos (cánceres ductales), aunque hay otros que se inician en las células que revisten los lobulillos (cánceres lobulillares) u otros tejidos, pero ocurren con menos frecuencia⁽⁵²⁾.

Sobre este tema, las estadísticas del Observatorio Global de Cáncer (GLOBOCAN) en 2020 también han revelado que el cáncer es la primera y segunda causa principal de muerte en 112 de 183 países, y ocupaba el tercer y cuarto lugar en otros 23 países⁽¹⁾. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las mujeres pierden más años de vida ajustados por discapacidad (AVAD), principalmente debido al CM⁽⁵³⁾. El CM es el cáncer diagnosticado con mayor frecuencia en mujeres en todo el mundo, con 2,26 millones casos nuevos en 2020⁽¹⁾.

Por otro lado, la carga de la incidencia y la mortalidad por cáncer está creciendo rápidamente en todo el mundo; esto se ve reflejado tanto por el envejecimiento y el crecimiento de la población como por los cambios en la prevalencia y distribución por los principales factores de riesgo de cáncer. En 2020, la tasa de mortalidad por cáncer de mama como indicador representativo de las tasas de supervivencia a 5 años fue de 0,30 a nivel mundial⁽⁵⁴⁾, mientras que las tasas de incidencia superaron las de otros tipos de cáncer, tanto en países desarrollados (55,9 por 100.000) como en países en vías de desarrollo (29,7 por 100.000)⁽¹⁾.

En Ecuador, de acuerdo con el Ministerio de Salud Pública Ecuatoriano (MSP), más del 18,2% de la población ecuatoriana fue diagnosticada de CM en 2018, superando al cáncer de cuello uterino, pero muy debajo de la neoplasia prostática, lo cual la convierte en la enfermedad más letal para el grupo femenino⁽⁵⁵⁾. Los registros del MSP también indican que los casos de CM en mujeres ecuatorianas fueron diagnosticados con 1.254 nuevas atenciones hasta el mes de junio de ese mismo año. Estas cifras corresponderían al 97,6% (casos de mujeres registrados) de todos los casos de cáncer detectados entre hombres y mujeres⁽⁵⁵⁾. Como resultado, la incidencia de CM en Ecuador ha sido de 31,8 mujeres y la tasa de mortalidad es de 9,1 personas por 100.000 habitantes ⁽⁵⁶⁾.

A pesar de estas cifras, la tendencia para el año 2020 sigue el mismo patrón, ya que el análisis de *International Agency for Research on Cancer* muestra un aumento en los casos reportados para esta enfermedad, representando 2,3 millones como nuevos casos y 685.000 como muertes registradas⁽⁵⁷⁾. Además, se ha evidenciado que pacientes de género femenino diagnosticadas en etapas avanzadas de CM tienen una probabilidad de supervivencia mucho menor, comparada con aquellas personas en que el CM fue detectado a tiempo (en estadios tempranos)⁽⁵⁸⁾.

De esta forma, la información conseguida por parte de los distintos organismos de investigación mencionados anteriormente va en una constante al alza desde años anteriores hasta los periodos de estudio más recientes. Esto lleva a entender que, dependiendo de las características, aspectos demográficos y los riesgos de cada

población, la tendencia puede acrecentarse con el pasar de los años y, por lo tanto, resulta necesario buscar alternativas de prevención para esta enfermedad.

1.4 Factores de riesgo y prevalencia del cáncer de mama

Hay varios factores de riesgo (FR) que pueden aumentar la probabilidad de CM en las mujeres. Aun así, tener varios FR no significa necesariamente que el paciente padezca CM⁽⁵⁹⁾. De hecho, muchas mujeres que padecen este tipo de neoplasia tienen exactamente los mismos FR que las que no lo padecen. Es posible que una mujer desarrolle CM sin razón alguna, debido a que las mutaciones genéticas pueden ocurrir sin ningún motivo en particular. En relación a esto, está ampliamente aceptado, sobre la base de estudios epidemiológicos, que los estrógenos endógenos y exógenos desempeñan un papel clave en el desarrollo de tumores de mama y que el riesgo de desarrollar CM es mayor con el aumento de los niveles de estrógenos⁽⁶⁰⁾.

Como resultado, se ha reportado que los FR del CM incluyen el estilo de vida, alteraciones hormonales, factores hereditarios, demográficos y relacionados con la mama⁽⁶¹⁾. Cada uno de estos se puede desglosar en partes más pequeñas que informan el estudio historiológico del origen de esta enfermedad en los pacientes. El cuadro 1 expone los FR más significativos en el desarrollo del carcinoma mamario.

Cuadro 1. Factores de riesgo del cáncer de mama.

Factores de riesgo	Características
Demográfico	<ul style="list-style-type: none">• Edad• Grupo sanguíneo
Reproductivo	<ul style="list-style-type: none">• Edad tardía de la menopausia y menarquia precoz• Ciclo menstrual ovulatorio• Métodos anticonceptivos hormonales
Hormonal	<ul style="list-style-type: none">• Fármacos estimulantes de la ovulación
Hereditario	<ul style="list-style-type: none">• Factores genéticos• Antecedentes familiares positivos de cáncer de mama
Relacionado con la mama	<ul style="list-style-type: none">• Trastornos benignos de la mama• Densidad mamaria
Estilo de vida	<ul style="list-style-type: none">• Obesidad y sobrepeso• Consumo de alcohol y tabaco

Fuente: Obtenido de Momenimovahed y Salehiniya⁽⁶²⁾.

Partiendo de la edad, diversos estudios han reportado que es el factor de riesgo más conocido e importante para el CM⁽⁶³⁾. De hecho, la tasa de incidencia aumenta significativamente con la edad y alcanza su punto máximo en la menopausia⁽⁶⁴⁾. Otros estudios han informado que alrededor del 80% de los pacientes con CM son personas mayores de 50 años, mientras que al mismo tiempo más del 40% son mayores de 65 años⁽⁶⁵⁾. Esto quiere decir que la aparición de cáncer en la vejez no se limita únicamente al CM, sino a la acumulación de un gran número de alteraciones celulares y la exposición a carcinógenos potenciales, que da como resultado un aumento de la carcinogénesis con el tiempo.

Por otro lado, el CM es a menudo una enfermedad que es exclusiva de las mujeres y es un tumor maligno raro en los hombres, que representa menos del 1% de todos los casos de cáncer⁽⁶⁶⁾. Esto se debe a que las mujeres tienen células mamarias que son muy vulnerables a las hormonas (estrógenos y progesterona, en particular), así como a cualquier alteración en su equilibrio. Por tanto, cualquier alteración dentro de los niveles fisiológicos de los niveles endógenos de hormonas sexuales representa un mayor riesgo de desarrollar CM⁽⁶⁷⁾.

Otros estudios han reportado que el grupo sanguíneo también tiene su papel en esta enfermedad. Los resultados de una revisión mostraron que las mujeres con grupo sanguíneo A y Rhesus positivo tienen un mayor riesgo de desarrollar CM, mientras que las mujeres con grupo sanguíneo AB y Rhesus negativo tienen un riesgo menor de desarrollarlo⁽⁶⁸⁾. Aunque estos resultados fueron confirmados por un estudio⁽⁶⁹⁾, otros investigadores no encontraron dicha relación⁽⁷⁰⁾.

En esa misma línea de ideas, la revisión de literatura evidencia una correlación entre los factores reproductivos y el CM ocasionada directamente por el efecto de las hormonas ováricas, las cuales empiezan su desarrollo en la pubertad y continúan durante los ciclos mensuales⁽⁷¹⁾. En particular, el estudio de Łukasiewicz *et al.*⁽⁶¹⁾ hace referencia a la menarquia, menopausia y el aborto como factores relacionados con el desarrollo de CM, mientras que el embarazo y período de lactancia son considerados como factores preventivos del CM.

El factor hereditario también es un aspecto de riesgo en el desarrollo del CM. Se ha demostrado que los factores genéticos efectivamente contribuyen a la incidencia del CM, pues más del 10% de los casos de cáncer hereditarios se deben a mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 heredados de forma autosómica dominante⁽⁷²⁾.

Otros factores relacionados como las características de la mama y el estilo de vida pueden incidir en el desarrollo del CM. En general, se ha reportado que la densidad mamaria, los trastornos mamarios benignos, la obesidad, el consumo de alcohol y tabaco, como la diabetes son factores que pueden aumentar el riesgo de desarrollar

CM^(61, 73). Las actividades físicas, la dieta, consumo de vitaminas y otros factores pueden prevenir el CM⁽⁶²⁾.

1.5 Características clínicas del cáncer de mama

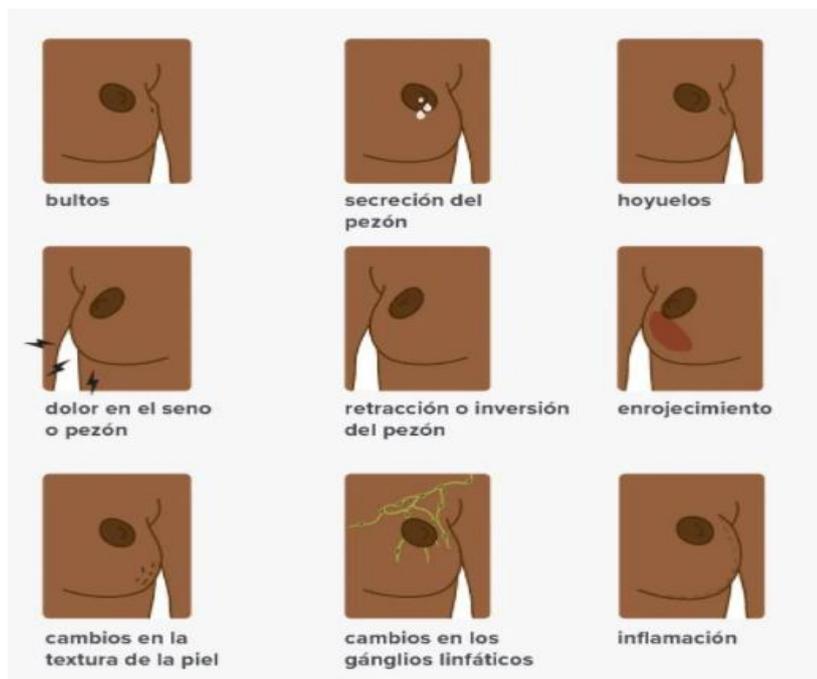
El CM es un tumor maligno que surge de las células epiteliales de los conductos galactóforos glandulares o lobulillos de la mama. La mama se encuentra formada por tejido linfático y tejido del sistema inmunitario que elimina los fluidos celulares y los desechos⁽⁵²⁾. Los tejidos glandulares albergan las glándulas productoras de leche y los conductos lácteos, mientras que los tejidos estromales incluyen tejidos conectivos grasos y fibrosos de la mama. Es necesario considerar cada una de estas partes de la mama, ya que el CM puede desarrollarse en cualquier sitio de ellas, producto del defecto en la reparación del daño del ADN, efectos en los puntos de control del ciclo celular que permiten que el ADN dañado no se repare o por la inactivación de BRCA1 a través de mutaciones o modificaciones epigenéticas^(74, 75).

Sobre esto último, un factor importante para tener en cuenta es que el tejido mamario tiene una mayor probabilidad de que se produzcan daños en el ADN debido a la extensa remodelación que se produce a lo largo de la vida de una mujer. Los senos son uno de los pocos órganos en el cuerpo que experimentan muerte y proliferación celulares definidas con precisión en una escala moderada a grande durante el desarrollo en el útero, la pubertad, los ciclos mensuales, durante el embarazo, la lactancia y la involución^(76, 77, 78). Por lo tanto, a lo largo de la vida de una mujer, su tejido mamario experimenta proliferación, apoptosis y diferenciación a un ritmo mayor que la mayoría de los demás tejidos. Por esta razón, no es de extrañar que el CM sea la neoplasia maligna femenina más común

Como resultado, existen varios tipos de tumores. La mayoría de estos comienzan en las células que recubren los conductos mismos, que son llamados cánceres ductales. Otros tipos de cáncer comienzan en las células que recubren los lóbulos, los cuales son denominados cánceres lobulillares, mientras que un pequeño número comienza en los otros tejidos⁽⁷⁹⁾. Aun así, cada uno de estos puede producir cambios o señales clínicas

que la mujer puede experimentar en el seno durante el desarrollo del cáncer mamario (Ilustración 2).

Ilustración 2. Cambios en la mama, en relación con el cáncer.



Fuente: Obtenido de Nall y Azu⁽⁸⁰⁾.

En la Ilustración 2 se puede observar los diferentes cambios que experimenta la mama durante el desarrollo del cáncer. Una de las primeras señales que la paciente experimenta es la presencia de los bultos, los cuales pueden tener una longitud considerable y alteran la forma original de la mama. Otro cambio que se puede notar es secreción en el pezón, la cual es un poco difícil de detener, debido a la fuerte inflamación que presenta en el área, y en algunos casos se puede observar que alrededor del seno han aparecido hoyuelos, deformando de cierta manera a la mama.

Asimismo, el síntoma más significativo en una paciente con CM es el dolor intenso en el pezón o seno, donde también se nota que la mama se inflama, provocando que la textura de la piel se vea diferente. También se puede observar que la mama experimenta algunos cambios en los ganglios linfáticos (bultos en las axilas). Cada

una de estas señales afectan negativamente en la salud de la persona, por lo que es importante acudir al médico para poder obtener el diagnóstico correspondiente.

1.5.1 Metástasis y mecanismos de invasión

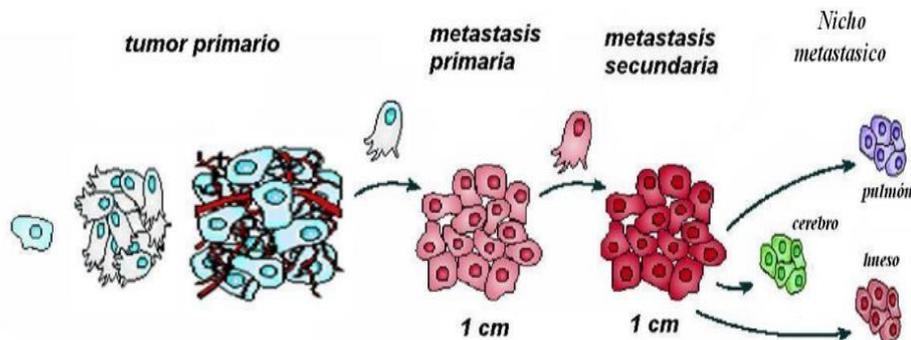
La metástasis, una característica común del cáncer, se presenta como un obstáculo importante para el desarrollo y la implementación de estrategias efectivas de tratamiento de esta enfermedad. Aunque todavía no está claro cuáles son los procesos y mecanismos celulares detrás de las metástasis, las tecnologías recientes y la investigación molecular han mejorado enormemente la comprensión de la biología del cáncer y han revelado nuevos objetivos para medicamentos contra el cáncer⁽⁸¹⁾. Por ejemplo, se ha tenido evidencia que el CM metastásico se origina dentro de la mama, y se propaga desde el sitio primario hasta los ganglios linfáticos cercanos y otros sitios en todo el cuerpo⁽⁸²⁾.

Se puede decir de la invasión y la metástasis que son las características más importantes de la malignidad del CM, y representan la mayoría de las causas de las muertes de pacientes. Todo el proceso metastásico puede considerarse relacionado con los vasos sanguíneos y los ganglios linfáticos, los cuales tienen una estrecha relación con la mama y la circulación sistémica⁽⁸³⁾. Estos vasos pueden permitir que las células tumorales viajen a otras partes de su cuerpo, donde pueden invadir otros órganos, como el hígado, pulmones, huesos o cerebro, ocasionando nulas esperanzas en una reparación positiva.

El proceso de metástasis se compone de una serie de pasos secuenciales. Primero, comienza con la invasión local del tejido circundante del huésped por células que se originan en el tumor primario y continúan hasta las células tumorales (CT). A continuación, las CT se someten a un ciclo celular en donde se detienen y adhieren a los lechos capilares dentro del órgano diana, antes de extravasarse en el parénquima, proliferando y promoviendo la angiogénesis dentro del órgano⁽⁸⁴⁾. Si las células tumorales siguen esta secuencia, deben evadir simultáneamente la respuesta inmune del huésped y las señales apoptóticas para poder sobrevivir. El proceso puede repetirse

para producir metástasis secundarias, que no podrán ser controladas. En la Ilustración 3 se puede observar dicho proceso.

Ilustración 3. Proceso metastásico del cáncer



Fuente: Tomado de Arvelo & Cotte⁽⁸⁵⁾.

1.6 Diagnóstico del cáncer de mama

El diagnóstico del cáncer ha sido por varias décadas uno de los más importantes dentro de la salud de las personas, ya que éste ayuda a reconocer el tamaño del tumor, el grado de propagación de la enfermedad, el tipo, el estado de los receptores, qué aspectos conlleva al tumor a crecer y la salud general de la paciente. En lo que respecta al diagnóstico del CM, su detección y prevalencia va de la mano junto con el crecimiento de la población. Por esta razón, algunos expertos prevén que en 2050 habrá unos 3,2 millones de nuevos casos de CM al año⁽⁸⁶⁾. Sin embargo, aunque la alta incidencia de esta enfermedad es inevitable, es posible reducir su mortalidad y para ello es necesario un tratamiento lo antes posible⁽⁸⁷⁾.

El CM se puede diagnosticar tanto antes de la aparición de los síntomas como después. Los resultados que se pueden conseguir en un análisis de CM se pueden utilizar como sustento para determinar tratamientos, según el estado de gravedad del paciente, reduciendo así el riesgo de muerte⁽⁸⁸⁾. Los encargados de la atención médica utilizan una variedad de métodos para detectar la presencia de CM. Pese a ello, el diagnóstico y el tratamiento han experimentado un cambio de paradigma, desde un enfoque único

para todos a una era de medicina personalizada. Dentro de estos se encuentran los diagnósticos sofisticados, incluidas imágenes moleculares y perfiles de expresión genómica, los cuales permiten una mejor caracterización del tumor⁽⁸⁹⁾. Estos análisis, combinados con técnicas quirúrgicas más avanzadas y las radioterapias, dan como resultado un enfoque multidisciplinario colaborativo para minimizar la recurrencia y reducir la morbilidad asociada al tratamiento.

Sobre lo anterior, Barber y colegas evidencian que los patólogos de mama utilizan diferentes técnicas de diagnóstico para identificar el estado de los tumores mamarios. (tamaño, ubicación y si son malignos o benignos) ⁽⁹⁰⁾. Por ejemplo, Weaver *et al.*⁽⁹¹⁾ describieron las aplicaciones de los “biomarcadores” de imágenes y pensaron que pueden construir el sistema de apoyo a la toma de decisiones para brindar ayuda para el cuidado clínico de las mamas y la investigación relacionada con el CM. Sin embargo, aunque muchos artículos describen una gran cantidad de métodos de diagnóstico para el CM^(92, 93), pocos presentan cómo elegir métodos adecuados para diferentes tipos de pacientes con CM.

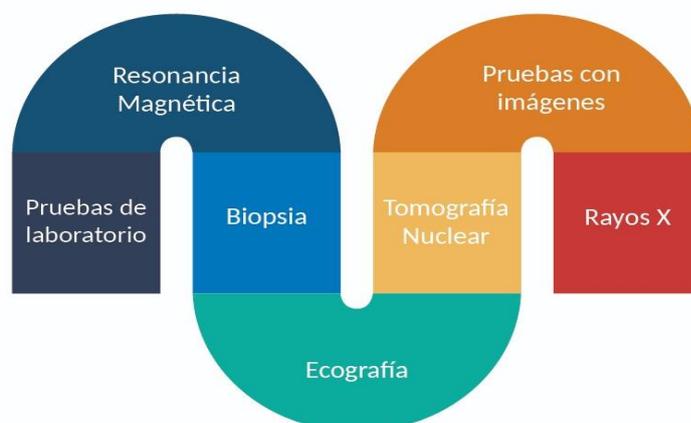
A pesar de eso, es común que el CM se diagnostique a través de un examen de detección o un síntoma (por ejemplo, dolor o una masa palpable). Clínicamente, el diagnóstico detectable comienza con la evaluación de las mamas mediante la elaboración de un historial médico y la realización de un examen físico específico que incluye, en la mayoría de los casos, un examen clínico de las mamas, seguido por imágenes de diagnóstico y muestreo de tejido con evaluación patológica (la llamada prueba triple de diagnóstico de mama). La mamografía es la técnica de imagen principal utilizada para detectar tumores de mama en estadios tempranos. Es especialmente útil para detectar tumores pequeños y tumores en mamas densas, ya que la densidad del tejido mamario puede dificultar la detección mediante la mamografía. Sin embargo, a veces, la mamografía puede ser insuficiente para detectar tumores en mamas densas; por eso se recurre a la ecografía. La ecografía es una técnica de imagen no invasiva que utiliza ondas sonoras para producir imágenes detalladas de las estructuras dentro de las mamas. Es útil para determinar si una masa en la mama es sólida o llena de líquido, y también se utiliza para guiar las biopsias. La ecografía es

especialmente útil para detectar tumores en mamas densas, ya que puede detectar tumores que no son visibles en las mamografías. La biopsia es el procedimiento para obtener una muestra de tejido de una masa en la mama para su análisis. Se puede realizar mediante una aguja o mediante cirugía. Una vez que se tiene la muestra, se analiza mediante técnicas de patología, como la histología y la inmunohistoquímica, para determinar si la masa es benigna o maligna.

En resumen, la prueba triple combina la mamografía, la ecografía y la biopsia para detectar tumores de mama de manera precisa y completa. Es útil especialmente en pacientes con mamas densas, ya que estas técnicas complementarias pueden detectar tumores que no se ven en la mamografía. Es importante señalar que esta prueba no es para todas las pacientes y cada caso debe ser evaluado de manera individual. De hecho, los componentes de una evaluación de detección de CM dependen de la edad de la paciente y otros factores, como antecedentes médicos y familiares como ya se explicó.

En la Ilustración 4 se muestran algunos diagnósticos más comunes utilizados dentro del área de detección del CM. Cabe mencionar que, aunque inicialmente los análisis de laboratorio se empleaban para ver la salud del paciente con énfasis en el tratamiento, actualmente se están utilizando como alternativa de detección (pruebas basadas en ARNm) temprana y predicción de resultados⁽⁹⁴⁾.

Ilustración 4. Tipos de diagnóstico para el cáncer de mama



Fuente: Elaboración propia en base a datos obtenidos de Intituto Nacional del Cáncer [NIH]⁽⁹⁵⁾.

Por su parte, las imágenes de la mama se utilizan casi exclusivamente para la detección, el diagnóstico y el tratamiento clínico de los cánceres y para la evaluación de la integridad de las mamas. Como modalidad convencional de imágenes médicas, la ecografía, la mamografía, la resonancia magnética nuclear (RMN), la gammagrafía mamaria, la tomografía computarizada por emisión de fotón único y la tomografía por emisión de positrones son pruebas de imagen comúnmente utilizadas para el diagnóstico del CM⁽⁹⁶⁾. Cabe destacar que la única modalidad de detección que ha demostrado reducir la mortalidad específica por CM es la mamografía⁽⁹⁷⁾. La mamografía se asoció con una reducción general del 30-40% en la mortalidad por CM, con un beneficio menor en mujeres de 40 años (15%) y un beneficio mayor en mujeres de 60 años^(98, 99). Sin embargo, los aspectos técnicos pueden afectar la calidad de los resultados de la prueba. Aun así, sus ventajas son detección rápida, alta precisión y bajo costo. Por ello, los programas de prevención hacen hincapié en esta técnica.

Acotando lo anterior, la resonancia magnética se aplica solo para observar la morfología y la condición de variación de los tejidos tumorales, o para localizar con precisión la ubicación de las lesiones (medir el tamaño del cáncer y buscar tumores metastásicos). La ultrasonografía se emplea para observar la morfología y la condición de variación de los tejidos tumorales, y puede localizar con precisión la ubicación de las lesiones. La RMN permite la detección temprana del CM familiar, independientemente de la edad, la densidad mamaria o el estado de riesgo de las pacientes⁽¹⁰⁰⁾. La elastografía se puede utilizar para obtener detalles sobre las propiedades mecánicas de los tejidos in vivo⁽¹⁰¹⁾. La ecografía es una herramienta complementaria que se puede utilizar para analizar algunos cambios mamarios en mujeres con tejidos mamarios densos, así como áreas sospechosas que no se ven en una mamografía⁽¹⁰²⁾. Por último, la biopsia se realiza para confirmar el diagnóstico y determinar si se ha producido metástasis en pacientes con CM en estadio temprano o avanzado.

1.7 Prevención del cáncer de mama

El CM es un proceso complejo que involucra a muchos tipos de células, y prevenirlo sigue siendo una tarea desafiante en todo el planeta. Es por ello que una detección temprana (DT) es clave para prevenir su desarrollo. En una investigación realizada, se reveló que la tasa de supervivencia relativa de los pacientes con CM en ciertos países desarrollados es más del 80% debido a la DT⁽¹⁰³⁾. En consecuencia, se han hecho grandes esfuerzos en las últimas décadas para comprender mejor la enfermedad y desarrollar métodos preventivos. En general, los métodos de prevención con mejores resultados son el cribado (mamografía y resonancia magnética), la quimioprevención (con SERM [moduladores selectivos de los receptores de estrógeno] e IA [inhibidores de la aromatasas])^(104, 105), la prevención biológica (utilizando trastuzumab y pertuzumab)^(103, 106) y el cambios en el estilo de vida⁽¹⁰⁷⁾.

Sobre este tema, también se puede decir que la prevención del CM depende de la focalización en los factores que aumentan el riesgo, pues muchos, pero no todos estos FR, pueden modificarse. Los que se pueden modificar están relacionados con el cambio de estilo de vida e incluyen la dieta, ejercicio, evitar ciertos hábitos tóxicos, como el tabaco y el alcohol, las hormonas femeninas exógenas, la radiación ionizante, el embarazo y la lactancia (Ilustración 5).

Ilustración 5. Factores de prevención del cáncer de mama.



Fuente: Elaboración propia (2021).

En cuanto a la dieta, se ha reportado que una alimentación equilibrada fortalece el sistema inmune del organismo y evita que la persona tenga bajas las defensas, permitiendo prevenir el CM⁽¹⁰⁸⁾. Asimismo, el ejercicio físico también debe ser tomado en cuenta pues se ha demostrado que 1 hora diaria de deporte reduce las posibilidades de contraer CM en las mujeres⁽¹⁰⁹⁾. Se debe evitar fumar cigarrillos y consumir alcohol, debido a que son sustancias tóxicas que pueden causar cáncer en un corto o largo período. Finalmente, es importante evitar la ingesta indirecta de hormonas, las cuales se encuentran a menudo en píldoras anticonceptivas, pues se ha reportado que éstas pueden incrementar el riesgo de CM⁽¹¹⁰⁾. Aunque estos hallazgos son debatidos, algunos estudios han encontrado una relación con la dosis de anticonceptivos, lo que sugiere que es más probable que las dosis más altas de estrógenos y progestágenos aumenten el riesgo de CM⁽¹¹¹⁾.

1.8 Aspectos histológicos del cáncer de mama

El CM es una enfermedad compleja y heterogénea, que comprende múltiples entidades tumorales asociadas con patrones histológicos distintivos con diferentes características biológicas y comportamientos clínicos. Según el origen de la célula involucrada, los cánceres de mama se pueden dividir en dos clasificaciones amplias, carcinomas y sarcomas⁽¹¹²⁾. Los carcinomas son CM que surgen de la proliferación intraductal potencialmente maligna no invasiva de células epiteliales que se limita a los conductos y lobulillos. Por otro lado, los sarcomas son una forma mucho más rara de CM que surge de los componentes del estroma de la mama, que incluyen miofibroblastos y células de los vasos sanguíneos.

La mayoría de los CM son carcinomas. Dentro del gran grupo de carcinomas, hay muchos tipos diferentes de CM identificados en función de su invasividad en relación con los sitios del tumor primario. Ser capaz de distinguir con precisión entre los distintos subtipos es vital, ya que cada uno tiene diferentes pronósticos e implicaciones de tratamiento. Con base en criterios de características patológicas e invasividad, los CM comunes se pueden dividir en tres grupos principales: cánceres de mama no invasivos (o *in situ*), invasivos y metastásicos^(113, 114, 115).

En particular, las neoplasias no invasivas de la mama comienzan en un conducto lácteo (lobulillar o ductal), pero no va creciendo hacia el resto del tejido mamario. Por el contrario, los tumores invasivos se caracterizan por la diseminación de células cancerosas fuera de la membrana basal de los conductos y lóbulos hacia el tejido normal adyacente circundante. Un ejemplo de esto es el carcinoma ductal invasivo (abreviado como CDI), el cual comienza en los conductos lácteos de la mama y penetra la pared del conducto, invadiendo el tejido graso de la mama y posiblemente otras regiones del cuerpo. Este cáncer es el tipo más común en la enfermedad mamaria y representa el 80% de los diagnósticos de CM⁽¹¹⁶⁾. Aun así, tanto los cánceres *in situ* como los invasivos tienen patrones característicos por los que se pueden clasificar⁽¹¹⁷⁾.

1.8.1 Carcinoma no invasivo

En la actualidad, la incidencia de carcinoma ductal *in situ* (CDIS) o carcinoma no invasivo ha ido en aumento, particularmente en sitios geográficos donde se han introducido programas de detección del CM. Cabe aclarar que las células de cáncer de mama no invasivas que están confinadas a los conductos no invaden los tejidos grasos y conectivos circundantes de la mama. Este tipo de carcinoma ha representado aproximadamente una quinta parte de todos los nuevos diagnósticos de CM detectados⁽¹¹⁸⁾. Puede presentarse como una masa mamaria palpable o engrosamiento o secreción del pezón o después del diagnóstico de enfermedad de Paget del pezón, pero generalmente no se asocia con manifestaciones clínicas. Las calcificaciones representan la presentación mamográfica más común de CDIS.

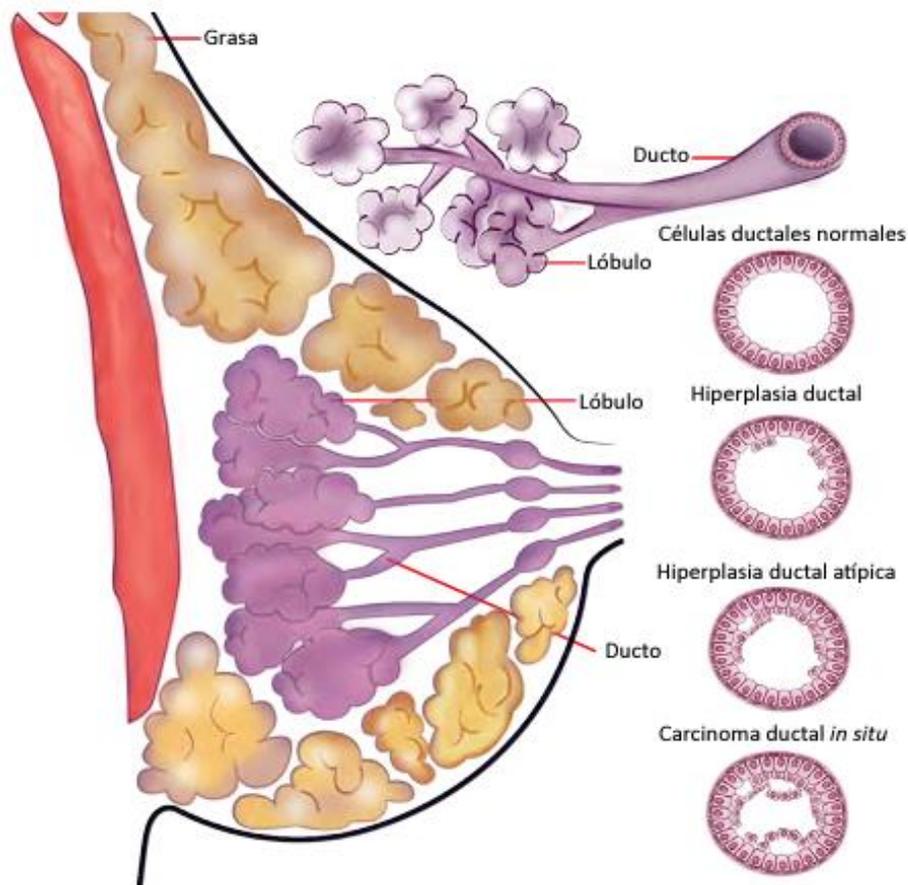
Una vez diagnosticadas, la mayoría de las mujeres con CDIS son tratadas por medio de cirugía, en otros casos mediante radioterapia y, a veces, con tratamiento endocrino. A pesar de ello, actualmente no existe un método sólido para distinguir el CDIS con potencial invasivo de aquellos que pueden dejarse sin tratar. De hecho, ya que el CDIS es una enfermedad heterogénea y puede variar en el momento del diagnóstico desde lesiones indolentes hasta tumores a punto de volverse invasivos, las características clínicas, histopatológicas y moleculares también pueden variar considerablemente⁽¹¹⁹⁾.

Como consecuencia de esta incertidumbre, el tratamiento suele ser extenso, lo que resulta en un sobretratamiento considerable^(120, 121).

La biología del CDIS es heterogénea y poco conocida. Se han propuesto varias clasificaciones histopatológicas para distinguir entre diferentes tipos de CDIS^(122, 123). Estas clasificaciones se basan en la morfología nuclear, el patrón arquitectónico del crecimiento tumoral (sólido, papilar, micropapilar o cribiforme) y la presencia/ausencia de comedonecrosis (comedón, no comedón). El primer sistema de clasificación es el más utilizado y arroja tres categorías de grados nucleares; bajo, intermedio y alto. El DCIS de bajo grado está relacionado con un bajo riesgo de recurrencia y tasa de proliferación. Por el contrario, el DCIS de alto grado se asocia con un comportamiento tumoral agresivo, una alta tasa de proliferación y tumores bien diferenciados. Una gran proporción de CDIS muestra combinaciones complejas de grados nucleares y/o patrones de crecimiento.

Por otro lado, el cáncer de mama no invasivo se compone de dos entidades distintas: carcinoma lobulillar *in situ* (CLIS) y el CDIS⁽¹²⁴⁾. El CLIS se considera solo un marcador de riesgo en lugar de un precursor del desarrollo posterior de cáncer invasivo, por lo que una vez que se establece el diagnóstico, no es necesaria una intervención quirúrgica adicional, aunque se recomienda un seguimiento continuo. La lesión de CDIS preclínica progresa o retrocede con una cantidad moderada de tiempo restante en la fase de detección. Sin embargo, cualquier estimación del CDIS preclínico que progresa hacia un CM invasivo debe incluir datos sobre los cánceres invasivos para evitar hacer suposiciones poco realistas. En la Ilustración 6 se puede observar este tipo de carcinoma. En cuanto al segundo caso, en el tratamiento del carcinoma ductal *in situ* se debe tener en cuenta que la terapia de preservación de la mama es considerada como un tratamiento óptimo del cáncer invasivo de mama.

Ilustración 6. Origen/evolución del carcinoma de mama no invasivo.



Fuente: Tomado de Gallego *et al.*⁽¹²⁴⁾

Rara vez el carcinoma no invasivo de la mama es sintomático clínicamente⁽¹²⁵⁾, por lo que el patólogo encargado de la paciente aún necesita descubrir más muestras de biopsias realizadas para lesiones clínicamente evidentes. Es así como el interés en estas lesiones se debe a las notables mejoras en la mamografía (realizadas antes de la cirugía), que han permitido detectar anomalías con probabilidades relativamente altas, catalogándose como carcinomas pre-invasivos. Sin embargo, una comprensión más profunda de los mecanismos moleculares de la invasión podría conducir al desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos personalizados para tratar el CDIS.

1.8.2 Carcinoma invasivo

El CM invasivo se produce cuando las células cancerosas se propagan más allá de la membrana basal, que cubre el tejido conectivo subyacente en la mama. Este tejido es rico en vasos sanguíneos y canales linfáticos capaces de transportar células cancerosas más allá del seno. El carcinoma invasivo suele aparecer como una masa blanca muy dura con bordes irregulares o estrellados. El tumor puede presentarse con rayas de color amarillo pálido que suele deberse a elastosis en respuesta desmoplásica, por lo que algunos tumores invasivos están bien delimitados. Este es el caso de los carcinomas mucinosos o medulares, los cuales, pueden ser firmes o blandos, teniendo un aspecto gelatinoso⁽¹²⁶⁾. Ocasionalmente se confunden con fibroadenomas; sin embargo, estos tumores no se abultarán ni tendrán hendiduras y pueden tener áreas de necrosis. El tamaño de los carcinomas invasivos es difícil de determinar visualmente, ya que los bordes a menudo se mezclan con el tejido fibroso circundante.

El CM invasivo se puede separar en tres grupos principales: cáncer de mama invasivo temprano, cáncer de mama localmente avanzado, y cáncer de mama metastásico. El CM invasivo temprano aparentemente está restringido a la mama y a los ganglios linfáticos locales, y puede extirparse quirúrgicamente. Aunque las mujeres no tienen metástasis manifiestas en el momento de la estadificación, siguen teniendo riesgo de recurrencia local y de diseminación metastásica. Además, se pueden dividir en aquellos con tumores de más de 4 cm o con cánceres multifocales que generalmente se tratan con mastectomía, y aquellos con tumores de menos de 4 cm de cánceres que pueden tratarse con cirugía conservadora del seno. El CM localmente avanzado se define, según el sistema de estadificación TNM (Sistema de Estadificación de Cáncer) de la UICC (Unión Internacional Contra el Cáncer), como estadio III (incluye enfermedad T4 ad; N2, pero ausencia de metástasis). Es una presentación de la enfermedad con evidencia clínica o histopatológica de compromiso de la piel y/o de la pared torácica, y/o ganglios axilares unidos por la extensión del tumor. El CM metastásico, también conocido como cáncer de mama en etapa IV, es un CM en etapa tardía, que se ha propagado a otros órganos del cuerpo⁽¹¹³⁾. Las metástasis de los CM se pueden encontrar en los ganglios linfáticos de la axila y/o en sitios distantes como

los pulmones, el hígado, los huesos y el cerebro. Incluso después de extirpar el tumor primario, las células tumorales microscópicas o las micrometástasis pueden permanecer en el cuerpo, lo que permite que el cáncer regrese y se disemine. Clínicamente, los pacientes pueden ser inicialmente diagnosticados con enfermedad metastásica o pueden desarrollar metástasis meses o años después de recibir el tratamiento inicial. El riesgo de que el CM regrese y haga metástasis no se entiende claramente ni es predecible, ya que varía de persona a persona, dependiendo, en gran medida, de la biología molecular única del tumor y la etapa en el momento del diagnóstico original⁽¹¹⁵⁾.

1.9 Bases moleculares del cáncer de mama

El carcinoma de mama comprende un grupo de enfermedades con propiedades clínicas, histopatológicas y moleculares específicas. La clasificación tradicional usa la morfología para dividir los tumores en categorías separadas con diferente comportamiento y pronóstico. Sin embargo, existen limitaciones de los sistemas de clasificación tradicionales y se espera que los nuevos métodos moleculares mejoren los sistemas de clasificación⁽¹²⁷⁾. Los subtipos moleculares de carcinomas de mama se han caracterizado en los últimos 11 años y se han estudiado ampliamente, por lo que gran parte de la información acumulada en los últimos años y la taxonomía molecular parece estar todavía en desarrollo y en proceso de cambio⁽¹²⁸⁾.

Para comprender la gravedad y la diversidad del CM, y ayudar a la medicina personalizada a alcanzar sus objetivos, es fundamental conocer las aberraciones moleculares y genómicas que las subyacen. En este sentido, algunos investigadores señalan que el carcinoma de mama no es una entidad única, sino una colección heterogénea de subtipos que muestran claras diferencias en el comportamiento clínico y biológico⁽¹²⁹⁾.

Al respecto, el CM puede clasificarse ampliamente en cuatro subtipos moleculares diferentes: luminal A (RE [+], RP [+], HER2 [-], Ki-67 < 20%), luminal B (RE [+], RP [+], HER2 [+]) o RE [+], PR [+], HER2 [-], Ki-67 ≥ 20%), enriquecido con HER2, tipo

basal o triple negativo. El subtipo luminal A es determinado como el más frecuente (50-60%) de los tumores⁽¹³⁰⁾, y está constituido de una alta expresión de genes, los mismos que tienen relación con los receptores hormonales y con una baja expresión de genes relacionados con la proliferación celular. En cuanto el subtipo luminal B, este es el que presenta niveles bajos de receptores de estrógeno y altos niveles de genes de proliferación. Además, es esencial tomar en cuenta el subtipo luminal HER2/neu, dado que se caracteriza por expresar citoqueratinas como CK9 y CK10⁽¹³¹⁾.

En el Cuadro 2 se puede observar como primer punto los tumores luminales A, que se asocian con un resultado clínico favorable, mientras que los tumores luminales B son clínicamente más agresivos y tienen una mayor tasa de recurrencia y las expectativas de supervivencia son menores. Aun así, los tumores luminales son biológicamente heterogéneos y no hay diferencias claras entre los dos subtipos luminales principales. Es por ello que, dentro de esta categoría (luminales B), se ha utilizado mayor expresión de genes relacionados con la proliferación como marcador positivo para este tipo de enfermedad. De ahí que se han propuesto biomarcadores específicos para discriminar tumores de tipo luminal A de luminal B. En este sentido, se demostró en un principio que un punto de corte del Ki67 $> 20\%$ podía ser útil para discriminar entre las subcategorías luminal A y B⁽¹³²⁾.

Cuadro 2. Subtipos del cáncer de mama.

Subtipo	Comportamiento
Luminal A	<ul style="list-style-type: none">• Subtipo más común y menos agresivo. Buen pronóstico.• Bajo grado histológico. Respuesta hormonal.• Asociado a incremento de edad
Luminal B	<ul style="list-style-type: none">• Similar al subtipo luminal A.• Peor resultado que el subtipo luminal A• Mas frecuentemente RE (+) / RP (-)
Basal	<ul style="list-style-type: none">• Subtipo agresivo• Alto grado histológico e índice mitótico• Riesgo en edades menores (<40 años)• Más frecuente en mujeres premenopáusicas afroamericanas
HER2/neu (+); RE (-)	<ul style="list-style-type: none">• Menos común. Subtipo altamente agresivo, alto grado histológico• Riesgo en mujeres <40 años, mayor que el subtipo luminal.• La etnia afroamericana puede ser un factor de riesgo• Resultado mejorado por HER2/neu (+)

Fuente: Tomado de Imigo *et al.*⁽¹³¹⁾.

Por otra parte, todos los carcinomas de mama también muestran una diversidad genética significativa debido a la variación genética heredada como a las aberraciones genómicas adquiridas (véase Cuadro 3). Las variantes heredadas consisten en polimorfismos de nucleótido único (PSN) y en la variación de número de copias (VNC) por lo que estos cambios forman el panorama genético de la línea germinal de fondo del individuo donde podría desarrollarse un cáncer⁽¹³³⁾.

Cuadro 3. Descripción de las alteraciones genómicas.

Alteraciones genómicas	Definición	Termino	Descripción
PSN	Polimorfismo de un solo nucleótido	Germiline	Variación genética heredada en la secuencia de ADN que ocurre cuando se altera un solo nucleótido
VNC	Variante de número de copia	Línea germinal	Alteración hereditaria del ADN que da como resultado un número anormal de copias de uno o más segmentos de ADN (1 kilobase o más)
VSN	Variante de un solo nucleótido	Somático	Variación genética adquirida en la secuencia de ADN que ocurre cuando se altera un solo nucleótido (es decir, mutación puntual)
CNA	Aberraciones del número de copias	Somático	Alteración adquirida del ADN que da como resultado un número anormal de copias de uno o más segmentos de ADN (1 kilobase o más)

Fuente: Obtenido de Li *et al.*⁽¹³³⁾.

1.9.1 Receptores esteroideos

Los receptores de hormonas son proteínas que se encuentran en las células del seno, captando señales hormonales que les indican que crezcan⁽¹³⁴⁾. Realizar una prueba de estos receptores es importante, ya que los resultados ayudan a determinar y decidir si es probable que el cáncer responda a una terapia hormonal u otros tratamientos. Si este es el caso, la terapia hormonal incluye medicamentos que reducen la cantidad de

estrógenos en el organismo o impiden que el estrógeno apoye el crecimiento y la función de las células mamarias^(135, 136).

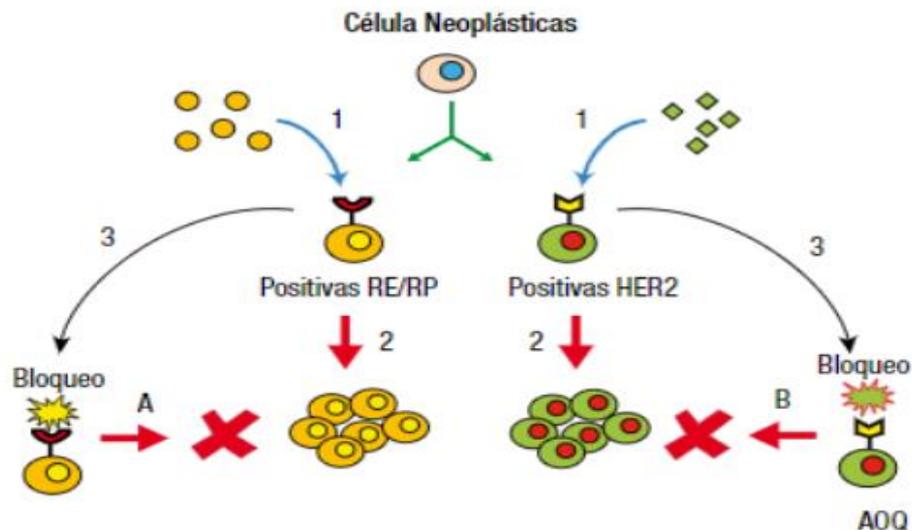
Los receptores esteroides, junto con los factores de crecimiento, impulsan el desarrollo, el crecimiento y la diferenciación del tejido epitelial de la mama después de la activación de los receptores nucleares de estrógeno y progesterona. Su activación sucede principalmente a través de la unión de ligandos o la fosforilación inducida por factores de crecimiento, y desencadena diversas redes de genes, vías metabólicas y reguladoras de células, que mantienen el epitelio mamario canceroso⁽¹³⁷⁾.

La medición del receptor de estrógeno citoplásmico en tumores de pacientes con CM está bien establecida, pues los usos potenciales incluyen el pronóstico de la recurrencia temprana después de la mastectomía, la estratificación de pacientes para terapias adyuvantes y la selección o rechazo de la terapia endocrina en el CM avanzado. Sin embargo, el uso de mediciones del receptor de progesterona para mejorar el proceso de selección tiene una buena base teórica, indicando que la presencia de receptores de estrógeno y progesterona en un tumor de mama predice una tasa alta de respuesta a la terapia endocrina, aunque se requiera de más trabajo e investigación en esta área⁽¹³⁸⁾.

1.9.2 Receptores de crecimiento

Algunos cánceres pueden manifestarse con una sobreexpresión de receptores hormonales de estrógeno y progesterona, denominados receptores hormonales positivos (RH positivos). Estos son capaces de prolongar el crecimiento tumoral, para evitarlo, se desarrollaron nuevos tratamientos que bloquean la unión de las hormonas circulantes al receptor, inhibiendo la proliferación tumoral (Ilustración 7). Esto, en consecuencia, mejora su pronóstico y a la vez predice la respuesta a los tratamientos hormonales. En base a la clasificación molecular, se denominan tumores luminales con un patrón inmunofenotípico similar al componente epitelial de la glándula mamaria⁽¹³⁹⁾.

Ilustración 7. Función de los receptores de los factores de crecimiento.



Fuente: Conseguido de Santillán-Benítez *et al.* ⁽¹⁴⁰⁾.

En la Ilustración anterior se puede apreciar la función que ejercen los receptores de sensibilización como factores de crecimiento y su papel importante en el campo clínico como un factor predictivo a los tratamientos. El primer lugar, el mitógeno se une al receptor, lo que provoca que los genes que inician la proliferación celular se activen, para luego bloquear a los receptores según su tipo (acción mitógena inhibida). De esta manera, se produce una disminución en la proliferación de las células, ya sea por medio de tamoxifeno (usado en el cáncer de mama positivo a receptores hormonales) o trastuzumab (usado en el cáncer de mama positivo a receptores HER2).

1.10 Factores pronósticos

El tratamiento adyuvante sistémico para el CM operable en estadio temprano ha estimulado el interés en las variables de pronóstico, debido a que cualquier característica de un tumor o combinación de estos que indique con precisión qué pacientes tienen riesgo de recurrencia es significativa. El refinamiento y el intercambio de información de pronóstico permite determinar mejores pruebas clínicas, lo que facilita la comparabilidad entre los grupos de tratamiento y proporciona marcadores que indican el éxito o el fracaso de determinadas terapias.

Hay varios factores de pronóstico independientes, pero interrelacionados, que predicen la recurrencia y la supervivencia del CM. Estos incluyen el estado de los ganglios linfáticos axilares, estado de los receptores hormonales, tasa de proliferación, ploidía, amplificación de oncogenes, edad, tamaño del tumor y características histológicas (subtipo histológico, grado histológico, grado nuclear, invasión linfovascular). Estos factores pueden combinarse con índices pronósticos para tener una estimación más precisa sobre el riesgo de recaída o de muerte asociada a la neoplasia^(141, 142).

El estado de los ganglios axilares ha sido el principal factor de diagnóstico tradicional de la recurrencia y la supervivencia en el cáncer de mama primario. En la Ilustración 8 se presentan los principales factores del pronóstico del CM, organizados en una secuencia ordenada.

Ilustración 8. Pronóstico del cáncer de mama



Fuente: Obtenido de González *et al.*⁽¹⁴²⁾.

Cada uno de estos aspectos contribuyen significativamente en el diagnóstico de cáncer mamario, lo que conlleva una toma de decisiones más apropiada y elementada sobre el tratamiento y la forma en la cual se va a manejar la enfermedad.

1.11 Estrategias terapéuticas

Los clasificadores tradicionales y las herramientas genómicas modernas (Ilustración 9) permiten clasificar el CM en subtipos que instruyen el tratamiento, el cual se ha vuelto extremadamente diferente de un tipo a otro. Además, cabe recalcar que la cirugía se ha vuelto menos invasiva y la radioterapia menos tóxica. Por otro lado, la quimioterapia, hormonoterapia, terapia dirigida e inmunoterapia han dado como resultado una mejora significativa dentro de los resultados para la mayor parte de los pacientes, lo que ha llevado a una disminución de la mortalidad ante la creciente incidencia de esta enfermedad.

Es recomendable que pacientes con CM que poseen receptores hormonales reciban terapia hormonal, pues es un activo tanto en enfermedades adyuvantes como metastásicas. Además, se ha evidenciado que alrededor de la mitad de las neoplasias mamarias que contienen receptores hormonales se vuelven resistentes al tratamiento hormonal, por lo que la resistencia a la terapia hormonal es revertida por ciertas moléculas involucradas en las vías de crecimiento de las células tumorales. La terapia hormonal adyuvante está indicada en todas las pacientes con neoplasia de mama HR+; sin embargo, no se recomienda su administración concomitante a la quimioterapia, pero puede administrarse durante la radioterapia⁽¹⁴³⁾.

Ilustración 9. Tipos de terapias para el cáncer de mama.



Fuente: Elaboración propia (2021).

Con respecto a la quimioterapia, los medicamentos que abarca esta terapia se administran por vía intravenosa o por vía oral. Una vez que los medicamentos alcanzan el torrente sanguíneo, recorren todas las partes del cuerpo para llegar a las células cancerosas que pueden haberse diseminado más allá de la mama. Por lo tanto, se entiende que la quimioterapia es un tratamiento que usa medicamentos para destruir las células cancerosas, y en ocasiones se usa después de la cirugía de CM para destruir cualquier célula cancerosa indetectable que pueda permanecer en la mama o en los ganglios linfáticos⁽¹⁴⁴⁾.

Del mismo modo, la inmunoterapia es un tipo de tratamiento donde el sistema inmunológico ayuda al cuerpo a combatir infecciones y otras enfermedades, formado por glóbulos blancos, órganos y tejidos del sistema linfático. En el marco del cáncer, una de sus principales funciones es permitir una mayor ventana en cuanto a las oportunidades dentro del tratamiento del CM individualizado. En cualquier caso, son precisas futuras investigaciones para encontrar los mejores agentes inmunoterapéuticos para estos pacientes⁽¹⁴⁵⁾.

Como parte de su función normal, el sistema inmunológico detecta y destruye las células anormales y muy probablemente previene o frena el crecimiento de muchos cánceres. En este sentido, las células de la inmunidad (linfocitos infiltrantes de tumores) a veces se encuentran dentro y alrededor de los tumores; de esta forma se evidencia que el sistema inmunológico está respondiendo al tumor⁽¹⁴⁶⁾.

Otra alternativa para tratar el CM ha sido la utilización de fármacos citotóxicos que actúan dentro del tejido tumoral, aumentando considerablemente la ventaja terapéutica en el CM avanzado HER2-positivo⁽¹⁴⁷⁾. El pertuzumab, trastuzumab deruxtecan, pembrolizumab + trastuzumab, y docetaxel, también han sido aplicados con dosis recomendadas en pacientes con este tipo de cáncer, dando como resultado un perfil de seguridad manejable en el tratamiento^(148, 149, 150, 151).

Asimismo, se ha evidenciado que la administración de atezolizumab junto con nab-paclitaxel en el CM triple negativo prolonga la supervivencia libre de progresión entre

los pacientes con esta enfermedad⁽¹⁵²⁾. En este mismo punto, para evitar que las células cancerígenas logren regenerar su ADN es necesario la administración de inhibidores de la poli-(ADP-ribosa)–polimerasa como olaparib y talazoparib, eficaces en el tratamiento del CM triple negativo en una etapa avanzada^(87, 153).

En consecuencia, es necesario recalcar que varios cambios en el ciclo celular afectarán las características de crecimiento de diferentes tipos de cáncer y también determinarán la respuesta del tumor al tratamiento. Asimismo, es indispensable señalar que los métodos actuales de tratamiento del CM están enfocados en desarrollar farmacología múltiple para reducir o eliminar el estrógeno circulante. El método de destruir el ambiente de estrógenos generalmente logra aliviar el tumor que se ha formado. Sin embargo, muchos tumores de mama no responden a la terapia endocrina o eventualmente desarrollan resistencia⁽¹⁴⁷⁾.

1.12 Planteamiento del problema

A pesar de los avances de la ciencia en los siglos XX y XXI, las tasas de incidencia y mortalidad por cáncer continúan elevadas. En la mujer, el CM es el más frecuente, tanto en países desarrollados, como en vías de desarrollo, y constituye la segunda causa de muerte por cáncer y la primera respectivamente; esta diferencia de mortalidad se debe a una mayor supervivencia en los países desarrollados⁽¹⁵⁴⁾. En Ecuador, este es el más frecuente y la segunda causa de muerte por cáncer en la mujer⁽⁵⁵⁾.

Para definir el tratamiento y pronóstico del CM, se tienen en cuenta características clínicas e imagenológicas como tamaño del tumor, infiltración a tejidos vecinos, diseminación por vía linfática y hematógena, dada por la presencia de adenopatías regionales u enfermedad a órganos distantes, lo que determina el estadio de la enfermedad⁽¹⁵⁵⁾. Existen distintas tasas de recaída para el carcinoma de mama localizado según el estadio. No obstante, no existen indicadores claramente establecidos que puedan predecir el riesgo individual por esta enfermedad. Además, es probable que los carcinomas catalogados como de alto riesgo tengan un pronóstico poco alentador pese a las opciones de tratamiento altamente activas, como las dosis

altas de quimioterapia (abreviado como HDCT por sus siglas en inglés). De ahí que resulta indispensable identificar una variable de pronóstico más objetiva y precisa que las que se utilizan actualmente.

Se han identificado también aspectos histológicos de las células tumorales, entre los que se encuentra el tipo histológico, grado de diferenciación celular, entre otros, así como la edad de la paciente, el estado menopáusico⁽¹⁵⁶⁾; sin embargo, no han sido suficientes para comprender el comportamiento de la enfermedad, debido a la gran heterogeneidad de los tumores de la mama.

La expresión de receptores de estrógeno, progesterona y receptor de factor de crecimiento epidérmico-2 en los tumores mamarios, determinados por técnicas de inmunohistoquímica, se relacionan con características clínicas, histológicas y biológicas de la enfermedad^(157, 158, 159). Los perfiles génicos han permitido realizar una clasificación molecular del CM y personalizar las conductas terapéuticas de acuerdo a su perfil genómico, por lo que se consideran factores pronósticos y predictivos.

Los estudios han mostrado diferencia en la prevalencia de los perfiles genómicos en los países y regiones. Ecuador es un país multiétnico y con diferentes culturas. Los grupos indígenas de Ecuador se encuentran distribuidos en cuatro regiones geográficas claramente diferenciadas: costa, zona montañosa o andina o sierra, selvática o amazonia u oriente, e insular.

En Ecuador, existen pocos estudios de perfil genómico del cáncer de mama, así como de la clasificación molecular y de su relación con el comportamiento clínico, histológico, y biológico de la enfermedad, lo que constituye nuestro problema de investigación.

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis de trabajo

- Ha: La clasificación molecular o de los patrones genómicos del cáncer de mama se relacionan con características clínicas e histológicas.
- Ho: La clasificación molecular del cáncer de mama no se relacionan con características clínico e histológicas.

2.2 Pregunta de investigación

¿Cuál es la relación de los patrones genómicos del cáncer de mama con características clínico e histológicas?

2.3 Objetivos

2.3.1 Objetivo general

Relacionar patrones genómicos del cáncer de mama con características clínico e histológicas.

2.3.2 Objetivos específicos

- Determinar la prevalencia de los patrones genómicos del cáncer de mama.
- Identificar las características clínicas e histológicas de los pacientes con cáncer de mama
- Relacionar los patrones genómicos del cáncer de mama con características clínicas e histológicas.

3. METODOLOGÍA

3.1 Población de estudio

Se inscribieron en el estudio pacientes con cáncer de mama, diagnosticadas de forma rutinaria entre enero de 2014 y diciembre de 2017 en el Hospital Abel Gilbert Pontón, de la ciudad de Guayaquil, Ecuador. Todos los pacientes eran mujeres. En total, se incluyeron en el estudio 199 casos consecutivos correspondientes a los criterios mencionados posteriormente. Las características demográficas de los casos se proporcionan en la sección de Resultados.

Se revisaron los registros del Hospital Abel Gilbert Pontón para identificar los datos clínicos e histológicos. Los datos morfológicos fueron confirmados en el Departamento de Patología del Hospital. La evaluación se realizó de forma rutinaria sobre la base del protocolo de CM, con el objetivo de una descripción completa de los factores pronósticos morfológicos.

3.2 Criterios inclusión y exclusión

Los participantes de este estudio fueron elegidos de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión descritos a continuación, los cuales pretenden generar una investigación profunda y significativa.

3.2.1 Criterios de inclusión

Se entienden como criterios de inclusión aquellas variables necesarias que deben compartir los objetos de estudio para ser analizados. En el presente estudio se tomó en consideración los siguientes criterios:

- Pacientes con diagnóstico histopatológico de cáncer de mama.
- Personas con historia clínica completa.

- Determinación de RE, RP, HER2/neu y Ki-67.
- Aquellos casos con tinción nuclear mínima de 1% de células tumorales.

Cabe mencionar que estas variables y parámetros histopatológicos fueron señalados a partir del objetivo de conocer su relevancia y prevalencia en el CM en mujeres de la región costa del Ecuador, y teniendo en consideración que autores como Jenkins *et al.*⁽¹⁶⁰⁾ mencionan que los parámetros histopatológicos desempeñan un papel clave en la comprensión de enfermedades complejas como el cáncer.

3.2.2 Criterios de exclusión

Con la finalidad de generar un estudio significativo se decidió excluir a los casos (n = 36) que:

- No tenían la historia clínica completa.
- Que la determinación de subtipos IHQ no se haya realizado o este incompleta.

Estos criterios fueron considerados para determinar que ciertos registros de los participantes no puedan participar del estudio, estableciendo un límite de la revisión sistemática y el proceso establecido.

3.3 Variables del Estudio

A continuación, se describen las variables principales y secundarias analizadas en el presente estudio.

3.3.1 Variable principal

La variable principal del presente estudio fue la clasificación molecular por inmunohistoquímica, la cual, a futuro, pretende abrir paso a una planificación de los recursos terapéuticos en los Centros de Salud. Según Tsang y Tse⁽¹⁶¹⁾ está clasificación

tiene como objetivo proporcionar un diagnóstico preciso de la enfermedad y una predicción del comportamiento tumoral para facilitar la toma de decisiones oncológicas. La información proporciona datos sobre planificación de estrategias de tratamiento y estratificaciones de pacientes que afectan al tratamiento de las pacientes con CM. Los marcadores inmunohistoquímicos se utilizan a menudo para guiar las decisiones de tratamiento, para clasificar el CM en subtipos que son biológicamente distintos y se comportan de manera diferente, y como factores tanto de pronóstico como predictivos⁽¹⁶²⁾.

3.3.2 Variables secundarias

Como variables secundarias se consideraron las características clínico-patológicas (edad, tamaño del tumor y estado de los ganglios linfáticos) e histológicas (tipo y grado histológico) de las pacientes. De esta forma, de un total de 235 casos de CM invasivo femenino identificados en el registro de pacientes del Hospital Abel Gilbert Pontón, de la ciudad de Guayaquil, Ecuador, desde el periodo enero 2014 a diciembre 2017, se evaluaron 199 historias clínicas que cumplieron con los criterios de inclusión. Se tomó en consideración la edad, la etapa clínica del paciente, el tamaño tumoral, el tipo y grado histológico, y el estado ganglionar.

3.4 Diseño del estudio

Partiendo del contexto y la importancia que representa la relación entre las características histopatológicas y biológicas de pacientes con CM con el pronóstico y terapéutica de éste, se realizó un estudio observacional de corte transversal en pacientes ecuatorianas atendidas en el Hospital Abel Gilbert Pontón entre enero de 2014 y diciembre de 2017.

Se consideraron las directrices de Medina⁽¹⁵⁶⁾ para las mediciones del tamaño del tumor (T1: 0,1 – 2,0 cm; T2: 2,01 – 5,0 cm y T3: 5> cm) y el estado ganglionar (N0: sin metástasis ganglionar; N1: metástasis en 1 a 3 ganglios linfáticos axilares; N2: metástasis en 4 a 9 ganglios linfáticos; y N3: metástasis en más de 9 ganglios

linfáticos), con valoración postquirúrgica de una cirugía radical o conservadora y disección axilar, estudiando como mínimo 12 ganglios.

La inmunotinción se realizó para el RE, RP, HER2/neu y el recuento de Ki-67, utilizando un sistema de tinción automatizado (Ventana Medical Systems, Inc.). Se consideraron tumores con receptores hormonales positivos (RH) a aquellos con tinción nuclear superior al 1% de células tumorales. HER2 se calificó en base a una escala de 0 a 3, de acuerdo con los criterios establecidos por la ASCO (Sociedad Estadounidense de Oncología Clínica, por sus siglas en inglés). En el análisis final, una puntuación de 3+ se consideró sobreexpresada o positiva y una puntuación ≤ 2 como negativa. Para los HER2 Equívocos o Inciertos (2+) se realizó SISH con sonda dual (HER2 y CEP17). La resultante fueron 5 grupos o categorías, donde los grupos 1 y 5 son considerados positivo y negativo, respectivamente. Mientras que, en los grupos intermedios 2, 3, y 4, se procedió a una relectura de la lámina de inmunohistoquímica del HER2 y un nuevo conteo de la ISH por un segundo patólogo. De esta manera se realizó una interpretación final de HER2-ISH Positiva o Negativa (con comentario del proceso y su relevancia terapéutica). No se realizó hibridación fluorescente *in situ* para la amplificación de HER2. Para Ki-67, el tumor se consideró $<20\%$ o $\geq 20\%$ de las células tumorales con núcleos teñidos positivos. Triple negativo se definió como la presencia de marcadores nucleares de RE y PR en menos del 1% de las células tumorales y una puntuación de 0 o 1 en la interpretación de la inmunotinción de HER2. Los resultados fueron calificados de forma independiente por dos patólogos.

El estudio constaba de dos subsecciones: información clínica y datos patológicos. La información clínica (datos de identificación del paciente, edad, sexo y terapia realizada) se obtuvo del registro clínico del paciente, pero toda la parte morfológica (datos macroscópicos y microscópicos) fue evaluada, complementada e informada en el Departamento de Patología por el grupo de patólogos a cargo del Hospital en estudio. Los análisis de dicha información se entregaron a la investigadora en forma de complemento para la historia clínica. El examen macroscópico descrito en el registro incluyó la medición del peso y el tamaño del material de la operación mamaria en tres dimensiones, la evaluación de la localización del tumor en la muestra de la

operación, el color, los bordes del tumor (redondeados, empujantes versus infiltrantes), la medición del tamaño del tumor en tres dimensiones y la distancia más corta entre el tumor y margen de resección quirúrgica. Las muestras de tejido tenían un registro de envío para investigación microscópica: tejido de líneas de resección quirúrgica (incluido el examen de afeitado de tejido blando y piel representativos, así como secciones perpendiculares de tejidos entre el tumor y el punto más cercano de la superficie de resección), tumor, pezón, piel que recubre el tumor y tejido de la glándula mamaria fuera del tumor macroscópicamente evidente. Todos los ganglios linfáticos identificados también tenían registro de investigación microscópica.

3.5 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se empleó el software estadístico R versión 4.1.0. Se utilizaron tablas de frecuencia para evaluar la distribución de las características clínico-patológicas entre los diferentes subtipos moleculares de CM. Los datos se expresaron como promedio \pm desviación estándar, a diferencia de las variables categóricas que se expresaron como recuentos de frecuencias y porcentajes. La relación entre los parámetros clínico-patológicos, histológicos y los subtipos moleculares, se evaluaron mediante las pruebas χ^2 (categóricas) y t de student (numéricas), respectivamente. Se definió un valor de $p < 0,05$ como significancia estadística.

3.6 Consideraciones éticas

La investigación cumple con el marco constitucional, legal y reglamentario que rige las actividades de los ecuatorianos y los artículos relacionados que se detallan a continuación:

- Art. 350 de la Constitución de la República del Ecuador: “El Sistema de Educación Superior tiene como finalidad (...) la investigación científica y tecnológica; (...), la construcción de soluciones para los problemas del país...” (Asamblea Constituyente).

- Art. 8. Inciso f. LOES, 2010: “(...) ejecutar programas de investigación de carácter científico, tecnológico y pedagógico que coadyuven al mejoramiento y protección del ambiente y promuevan el desarrollo sustentable nacional (Asamblea Nacional, 2010).
- Art 12, inciso d. LOES, 2010: “Fomentar el ejercicio y desarrollo de (...) la investigación científica y todos los niveles y modalidades del sistema”.

En el desarrollo del presente estudio se tomaron en cuenta las razones de protección de identidad y confidencialidad de los pacientes. Con resolución N° 001-073 CEAACES-2013-13, el protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos (CEISH) de la Universidad Técnica del Norte (Ibarra, Ecuador) (Anexo 1). Al ser un estudio retrospectivo no se realizaron consentimientos informados, sino que se realizó un acta de confidencialidad para la información con el Hospital Abel Gilbert Pontón (Anexo 2), el mismo que fue otorgado y aprobado bajo responsabilidad del Hospital con memorando N° HAGP-2019-UDI-324-M, otorgando el acceso a la información en temas relacionados con la salud. Por ello, se aplicaron todos los principios bioéticos de anonimato y beneficencia. En este último, no existieron implicaciones ni problemas éticos, debido a que a cada paciente se le asignó un número de identificación o serie en específico. Además, en el acuerdo de confidencialidad, los investigadores se comprometieron a:

- No revelar la identidad de los pacientes en ningún momento durante el estudio (principio de anonimización).
- No compartir los registros médicos de los pacientes con ninguna otra persona o entidad que no estuviera directamente involucrada en el estudio.
- No causar daño intencionalmente a los pacientes u hospital tramitador del permiso, y a tratar la información recolectada con respeto y cuidado.
- Destruir los registros médicos una vez que el estudio fuese completado.

- Los resultados obtenidos del estudio serán de beneficio para el hospital y otros programas de beneficencia en relación al diagnóstico y terapéutica del cáncer.

A todo esto hay que sumar el cumplimiento de la Declaración de Helsinki en todo el estudio, siendo éste uno de los documentos más influyentes en ética de la investigación y el cual se basa menos en principios filosóficos clave y más en declaraciones prescriptivas⁽¹⁶³⁾. Finalmente, es preciso mencionar que los datos e información obtenidos en este estudio no han sido utilizados para otros fines que no sean los expuestos en puntos anteriores. Además, para la realización del estudio se tomaron en consideración todas las leyes y normas ecuatorianas que rigen la autorización de estudios clínicos, en especial la:

- Constitución del Ecuador del 2008.
- Ley Orgánica de Salud del Ecuador.
- Ley de derechos y amparo del paciente del Registro Oficial Suplemento 626 de 03-feb-1995 en la última modificación de 22-dic-2006.
- Normativas del Ministerio de Salud Pública.
- Código Integral Penal.

4. RESULTADOS

4.1 Características básicas del grupo de estudio

El estudio incluyó a 199 mujeres con carcinoma de mama invasivo, que fueron diagnosticadas entre enero de 2014 y diciembre de 2017 en el hospital Abel Gilbert Pontón, de la ciudad de Guayaquil, Ecuador. La edad de los pacientes osciló entre 27 a > 91 años (media \pm desviación estándar (DE), $56,77 \pm 11,96$). La distribución por edades se muestra en la Figura 1. El 54,8% de los pacientes corresponden al rango de edad de 40 a 60 años, el 37,7% al grupo de > 60 años, y solo un 7,5% < 40 años. La tasa de prevalencia más alta (90,5%) se encontró en el rango de 39 a 77 años. El grupo con mayor incidencia fue el de 52 – 64 años (Figura 1).

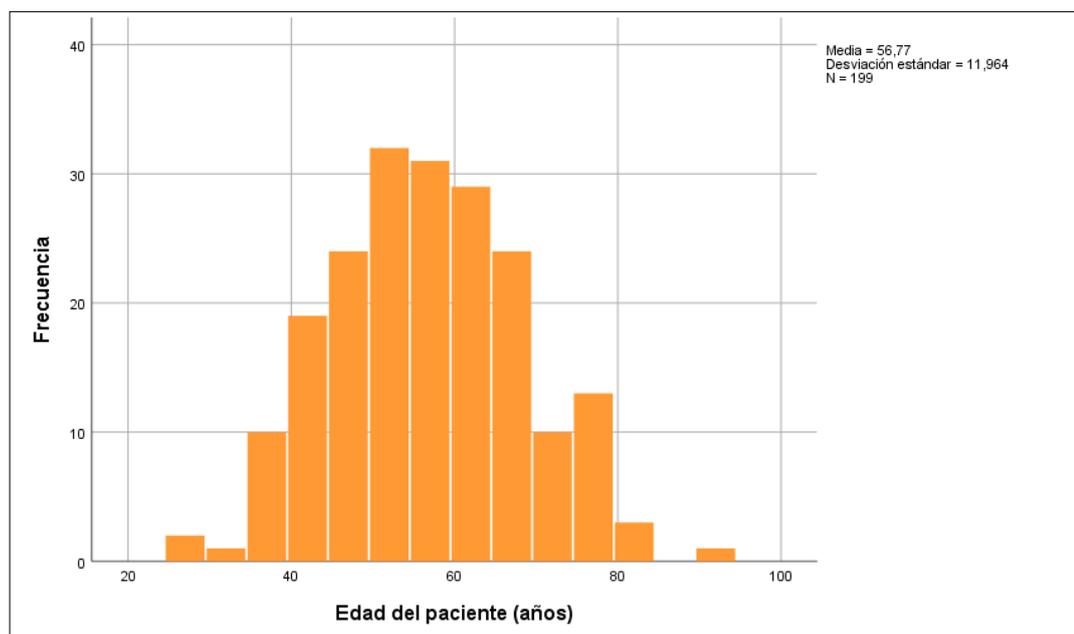


Figura 1. Distribución por edad de los pacientes.

4.2 Características morfológicas de los tumores

El espectro completo de los tipos morfológicos revelados, así como las otras características histopatológicas se muestra en la Tabla 1. Los carcinomas ductales invasivos constituyeron la mayor parte de los cánceres; en concreto 198 (99,5%) de 199 tumores primarios de mama. Se diagnosticó un único caso (0,5%) de carcinoma lobulillar de mama.

Tabla 1. Distribución de las características morfológicas de los tumores.

Características	Frecuencia (n=199)	Porcentaje
Etapa Clínica		
I	10	5,0%
II	112	56,3%
III	68	34,2%
IV	9	4,5%
Tamaño del tumor		
T1	15	7,5%
T2	143	71,9%
T3	41	20,6%
Grado histológico		
Grado I	2	1,0%
Grado II	113	56,8%
Grado III	84	42,2%
Tipo histológico		
Ductal	198	99,5%
Lobulillar	1	0,5%
Estado ganglionar		
N0	73	36,7%
N1	79	39,7%
N2	43	21,6%
N3	4	2,0%

Según la etapa clínica del cáncer de mama, los 199 tumores se caracterizaron de la siguiente manera: I=10 (5,0%); II=112 (56,3%); III=68 (34,2%) y IV=9 (4,5%). Los datos relevantes se muestran en la Tabla 1.

En cuanto a las categorías del tamaño del tumor, hubo 15 casos (7,5%) de T1 que corresponden a una dimensión de 0,1 – 2,0 cm, 143 casos (71,9%) de T2 (2,01 – 5,0 cm) y 41 casos (20,6%) de T3 (> 5 cm).

Por otro lado, el estado ganglionar se presentó con mayor frecuencia con metástasis en 1 a 3 ganglios axilares (39,7%), metástasis de 4 a 9 ganglios axilares (21,6%), con metástasis en 10 ganglios o más (2,0 %), y sin metástasis ganglionar (36,7%).

En los tejidos mamarios, todos los casos se clasificaron por grado histológico de la siguiente manera: Grado I = 2 (1%), Grado II = 113 (56,8%) y Grado III = 84 casos (42,2%), de los cuales más de la mitad de los casos (56,8%) se correspondían con tumores moderadamente diferenciados (grado II).

4.3 Hallazgos inmunohistoquímicos sobre subtipificación molecular y variables pronósticas

Los pasos posteriores de la investigación inmunohistoquímica incluyeron la evaluación del subtipo molecular. Mediante inmunohistoquímica, se determinó e incorporó la expresión de ER, PR, HER2 y Ki-67 en el subtipo molecular de carcinoma de mama, junto con hallazgos SISH apropiados para la positividad de HER2. Las características del paciente y del tumor de los 199 casos, según los subtipos moleculares, se resumen en la Tabla 2. La mayoría de los casos fueron luminal A (53,80%), seguido del subtipo HER2 (20,10%). El subtipo de cáncer de mama triple negativo constituyó el 14,5%, mientras que solo el 11,6% de los tumores se clasificaron como luminal B (véase Tabla 3).

Tabla 2. Características clínico-patológicas de los subtipos moleculares de cáncer de mama.

Características	Luminal A	Luminal B	HER2	Triple negativo	Total	Valor p
Total	107 (53,8%)	23 (11,6%)	40 (20,1%)	29 (14,5%)	199 (100%)	
Edad						
< 40 años	1 (0,9%)	2 (8,7%)	3 (7,5%)	9 (31,0%)	15 (7,5%)	
40 – 60 años	54 (50,5%)	21 (91,3%)	19 (47,5%)	15 (51,7%)	109 (54,8%)	<0,001
> 60 años	52 (48,6%)	0	18 (45,0%)	5 (17,2%)	75 (37,7%)	
Tamaño del tumor						
T1	8 (7,5%)	4 (17,4%)	3 (7,5%)	0	15 (7,5%)	
T2	78 (72,9%)	14 (60,9%)	30 (75,0%)	21 (72,4%)	143 (71,9%)	0,023
T3	21 (19,6%)	5 (21,7%)	7 (17,5%)	8 (27,6%)	41 (20,6%)	
Grado histológico						
Grado I	2 (1,9%)	0	0	0	2 (1,0%)	
Grado II	82 (76,6%)	8 (34,8%)	15 (37,5%)	8 (27,6%)	113 (56,8%)	<0,001
Grado III	23 (21,5%)	15 (65,2%)	25 (62,5%)	21 (72,4%)	84 (42,2%)	
Estado ganglionar						
N0	58 (54,2%)	5 (21,7%)	7 (17,5%)	3 (10,4%)	73 (36,7%)	
N1	33 (30,8%)	14 (60,9%)	17 (42,5%)	15 (51,7%)	79 (39,7%)	
N2	16 (15,0%)	4 (17,4%)	14 (35,0%)	9 (31,0%)	43 (21,6%)	<0,001
N3	0	0	2 (5,0%)	2 (6,9%)	4 (2,0%)	

Tabla 3. Distribución molecular de los tumores.

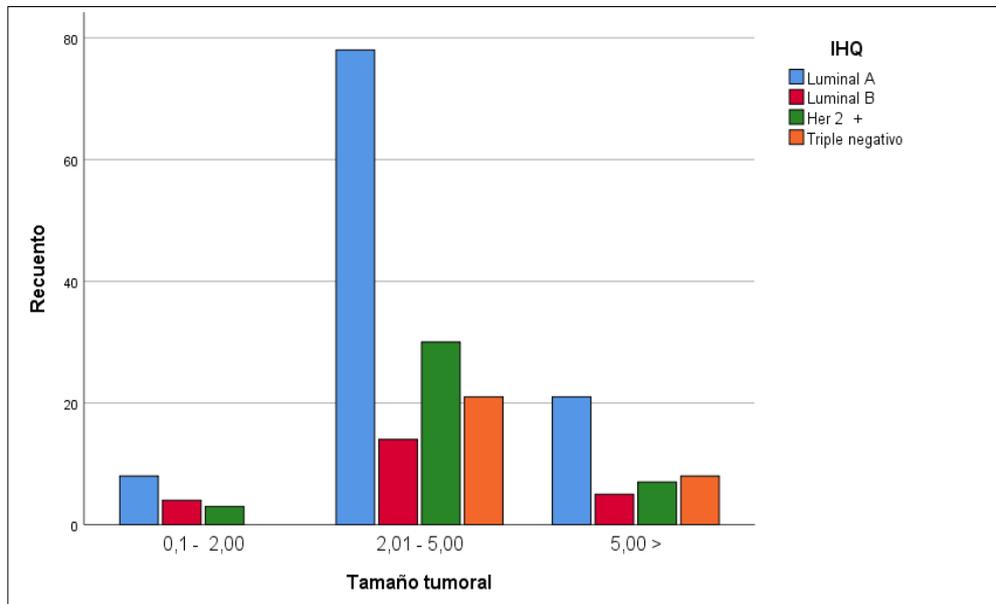
Clasificación molecular	Frecuencia (n=199)	Porcentaje	IC 95%
Luminal A	107	53,80%	53,21 – 54,39%
Luminal B	23	11,60%	11,01 – 12,19%
HER2	40	20,10%	19,51 – 20,69%
Triple negativo	29	14,50%	13,91 – 15,09%

4.4 Asociación entre los subtipos moleculares del carcinoma de mama y las variables pronósticas conocidas

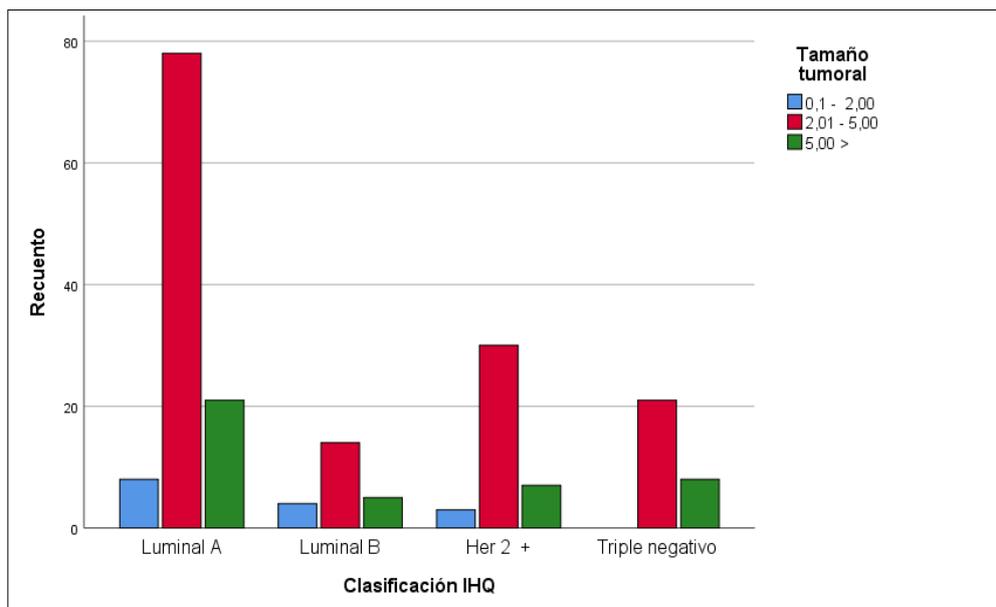
Aunque se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los subtipos moleculares y la edad media al diagnóstico ($p < 0,001$), los valores medios oscilan dentro del período posmenopáusico, es decir, desde los 40 años hasta 60 años; esto tanto para el subtipo luminal A como para el B.

Se encontró una diferencia significativa cuando se compararon los subtipos moleculares por el tamaño tumoral promedio al momento del diagnóstico ($p = 0,023$), con cánceres de mama luminal A y triple negativo con mayor volumen (T3: > 5 cm, respectivamente) que otros subtipos moleculares (luminal B: T2 y HER2: T2). Se observaron diferencias significativas cuando se comparó el grupo triple negativo con los subtipos luminal A ($p = 0,006$), luminal B ($p = 0,064$) y HER2 ($p = 0,087$).

Por otra parte, la mayor proporción de tumores T1 – T3 se clasificaron como luminales A (Figura 2-A), donde la participación llegó al 4,02%, 39,2% y 10,55%, respectivamente. Sin embargo, la proporción de T2 y T3 fue ligeramente alta en los subtipos HER2 (15,08%) y triple negativo (4,02%), respectivamente; aunque menores a los de luminal A. En cuanto a la significación estadística, se revela una mayor proporción ($p < 0,001$) del subtipo molecular luminal A (Figura 2-B).



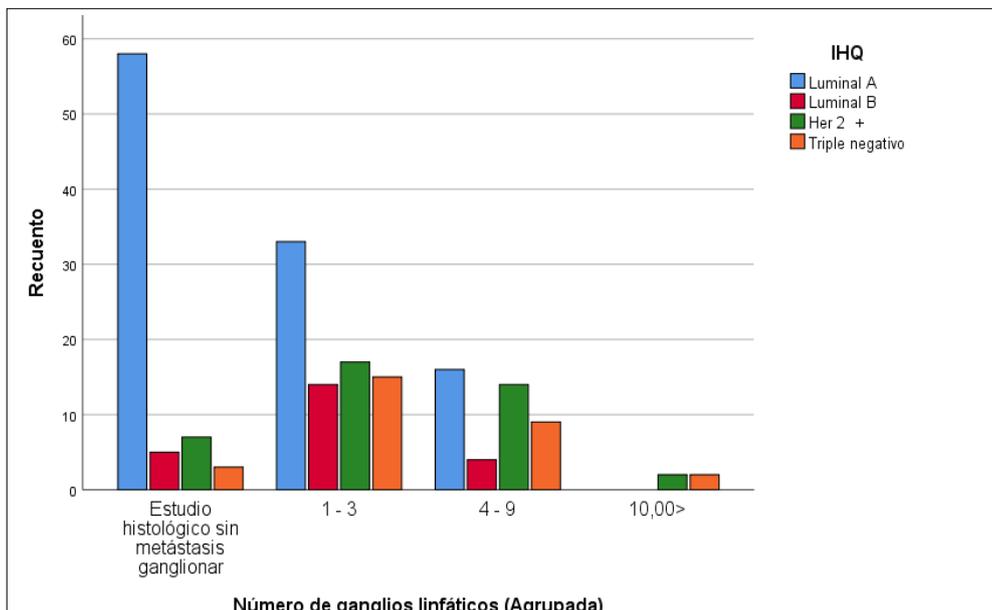
A)



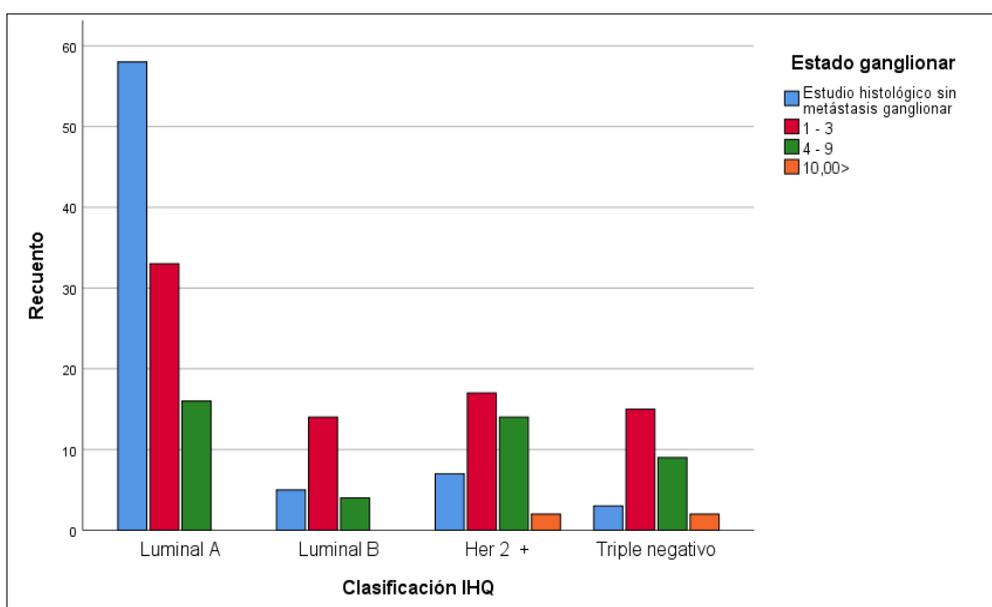
B)

Figura 2. Relación entre el tamaño del tumor y los subtipos moleculares de cáncer de mama.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) analizando los subtipos moleculares por estadios de los ganglios. Los tumores sin metástasis en los ganglios linfáticos pertenecían principalmente a los subtipos moleculares luminal A y HER2. Esta tendencia se repite para N1 a N3 (Figura 3-A), aunque los subtipos moleculares luminal B, HER2 y triple negativo mostraron la mayor proporción en N2 y N3 (Figura 3-B).



A)



B)

Figura 3. Relación entre el estado ganglionar y los subtipos moleculares de cáncer de mama.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) con respecto al grado histológico y los subtipos moleculares. Una cantidad significativamente mayor de casos Grado II pertenecen a los subtipos luminal A y HER2, mientras que los cánceres de mama Grado I son principalmente cánceres de subtipo molecular luminal A (Figura 4-A). Las proporciones más altas de tumores de alto grado (Grado III) se

detectaron en los subtipos luminal B (65,2%), HER2 (62,5%) y triple negativo (72,4%) (Figura 4-B).

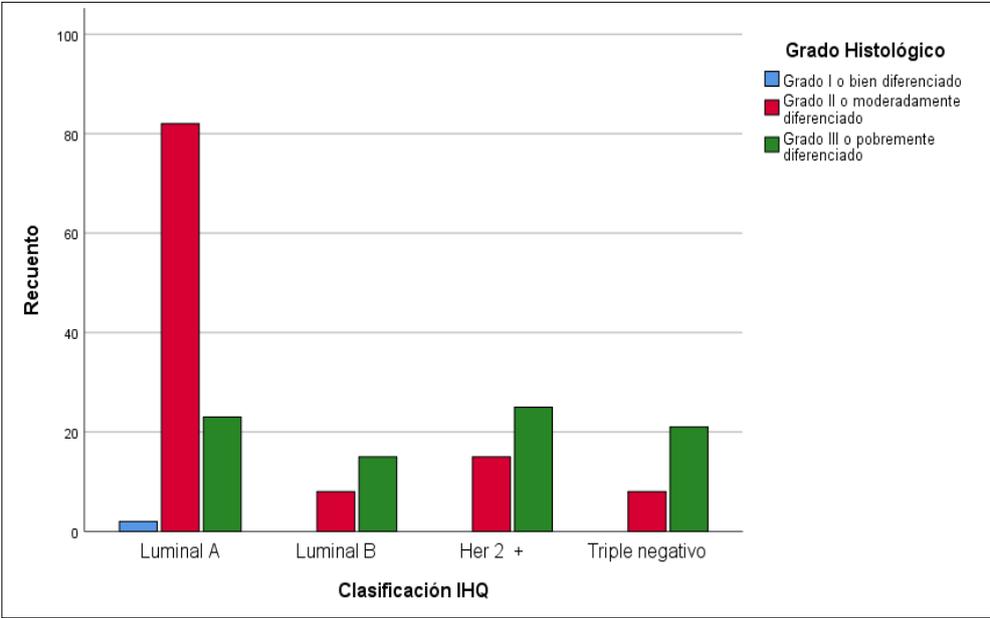
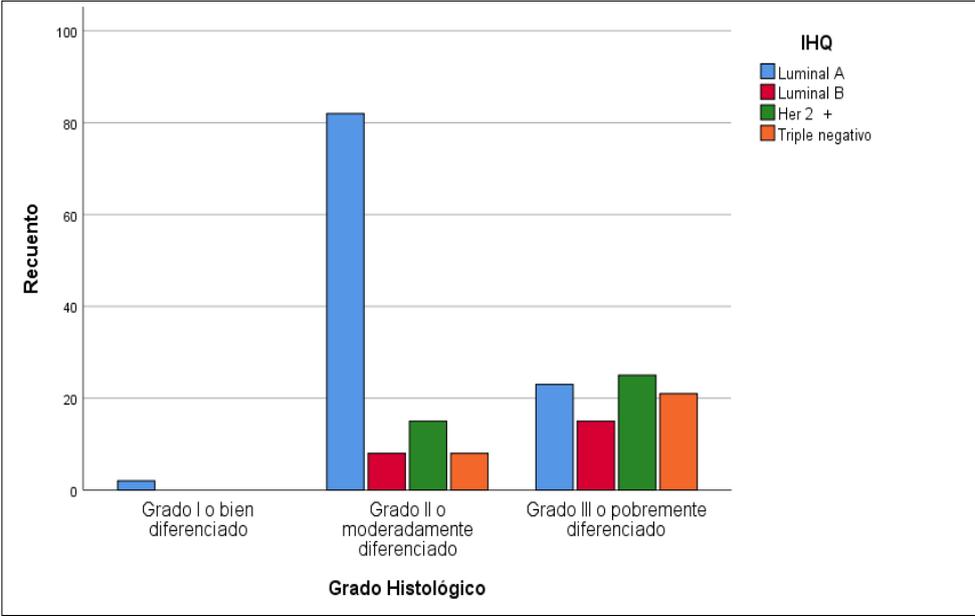
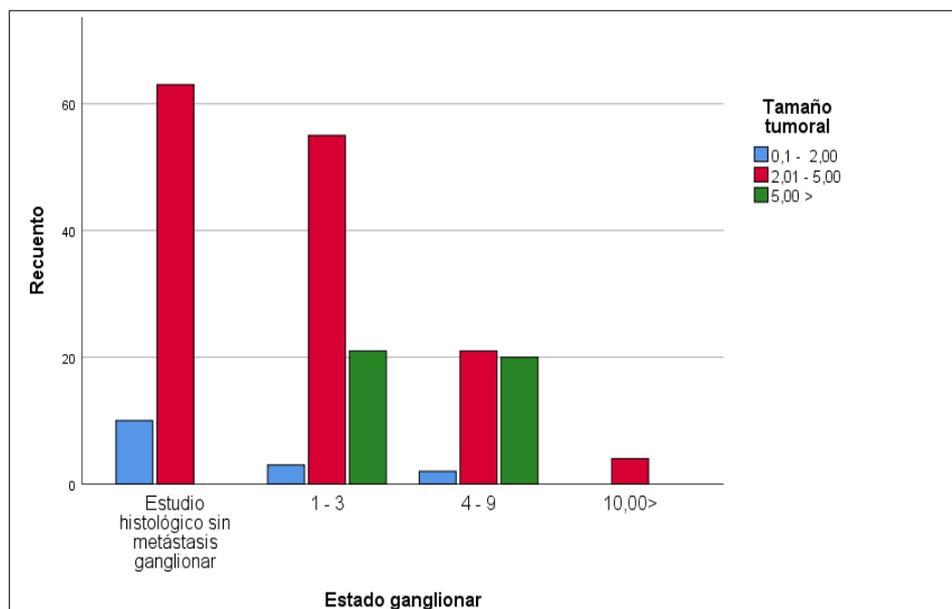


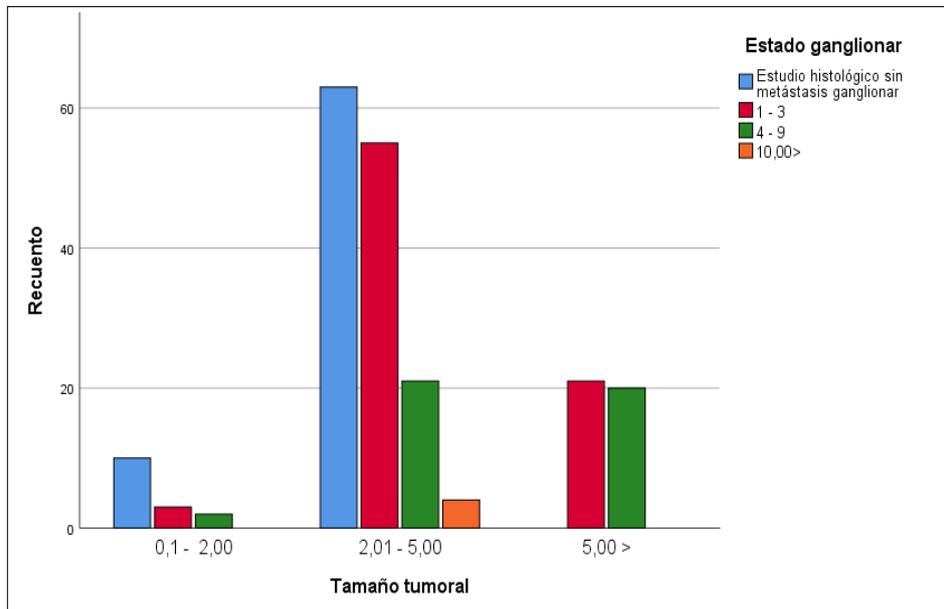
Figura 4. Relación entre el grado histológico y los subtipos moleculares de cáncer de mama.

4.5 Asociaciones entre variables morfológicas

Los ganglios linfáticos fueron detectados y examinados en 199 casos. Entre los tumores que miden menos de 2 cm en su diámetro mayor (T1), las metástasis en los ganglios linfáticos estuvieron ausentes en su mayoría, no encontradas en 10 casos (66,7%). En los cánceres T2, la distribución N0 fue diferente: no se encontraron metástasis en el 44,1% de los casos, se identificaron 1-3 ganglios linfáticos positivos en el 38,5% de los casos y en N2 14,7%; sin embargo, se encontraron 10 o más metástasis en los ganglios linfáticos axilares en el 2,8% de los participantes. Los tumores más grandes se asociaron con una diseminación más agresiva, ya que en los casos de T3 hubo 1-3 ganglios linfáticos positivos en el 51,2%, y en N2 el 48,8% de los casos (Figura 5-A). En general, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$), incluidos hallazgos descritos a continuación.



A)

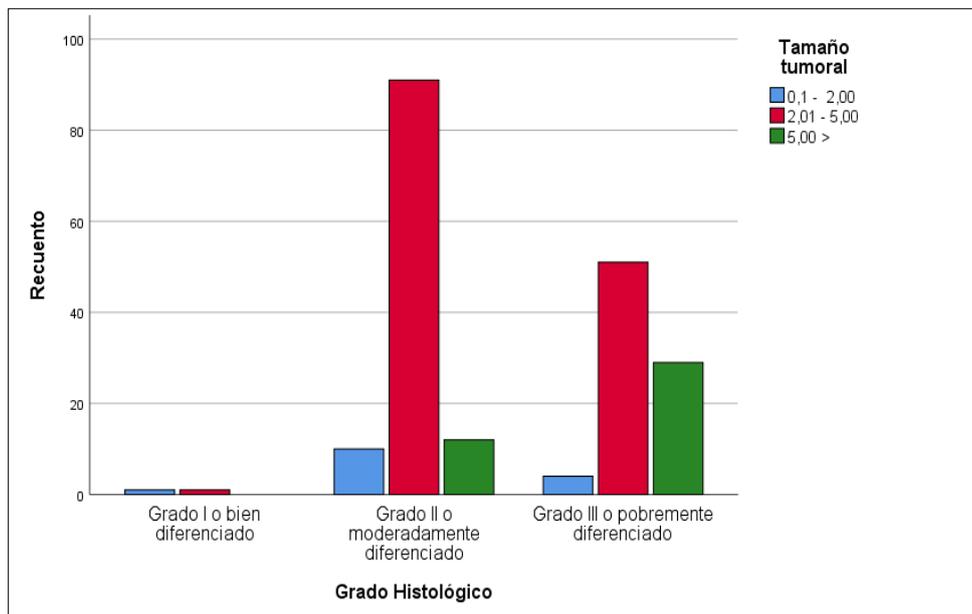


B)

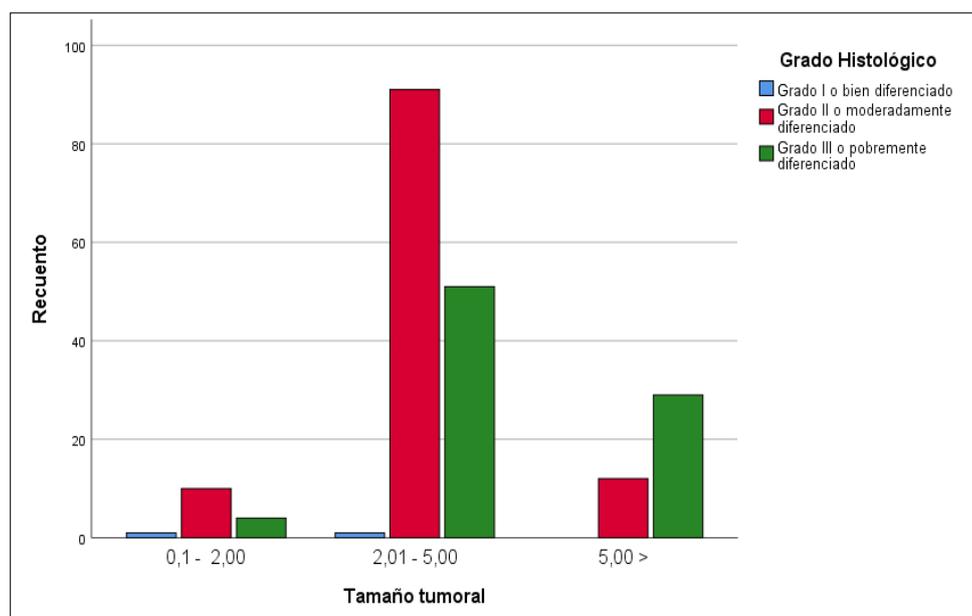
Figura 5. Relación entre el tamaño del tumor y el estado ganglionar del cáncer de mama.

Evaluando el ganglio linfático, casos negativos y positivos, los tumores T1 (13,7%) predominaron en el grupo N0. Por el contrario, en el grupo N1, que mostró 1-3 ganglios linfáticos positivos, T2 fue el hallazgo más común, constituyendo el 69,6% de los casos. De manera similar, N2 (4-9 ganglios linfáticos positivos) y N3 (≥ 10 ganglios linfáticos positivos) fueron dominados por T2, que suponían el 48,8% y el 100%, respectivamente (Figura 5-B). La asociación entre los parámetros fue estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

Por otro lado, el análisis estadístico ha revelado una correlación entre el tamaño del tumor y el grado histológico ($p = 0,0002$). En el grupo T1, la frecuencia de carcinoma G2 o G3 fue del 66,7% y 26,7%, respectivamente. Por el contrario, G3 fue más frecuente en el grupo T2 (35,7%) y T3 (70,7%), como se muestra en la Figura 6-A. El carcinoma T2 se caracterizó por la rara aparición de G1 (0,7%). Además, entre el grupo G2 y G3 hubo un predominio de T2 (80,5% y 60,7%, respectivamente), como se muestra en la Figura 6-B. Se identificaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$).



A)

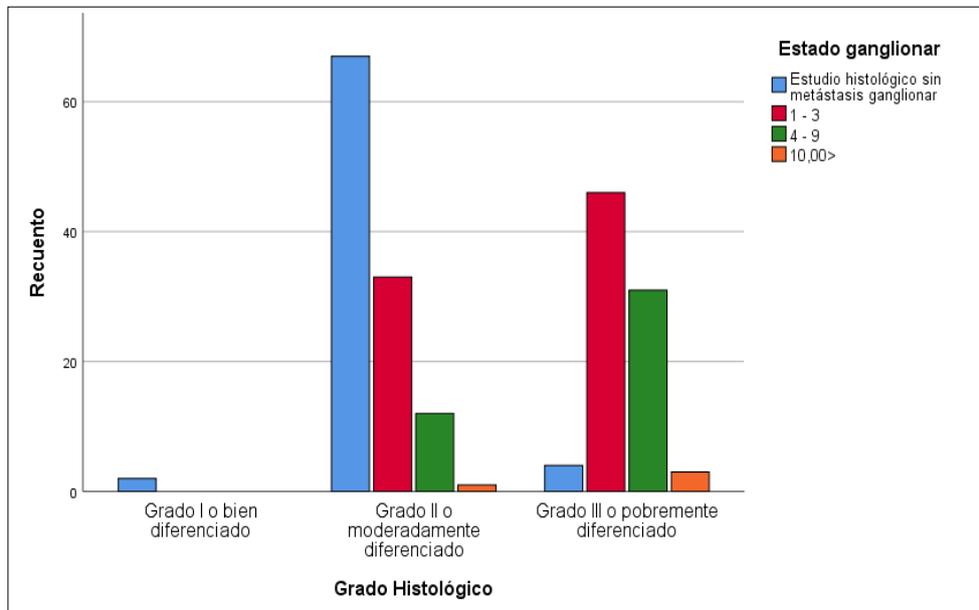


B)

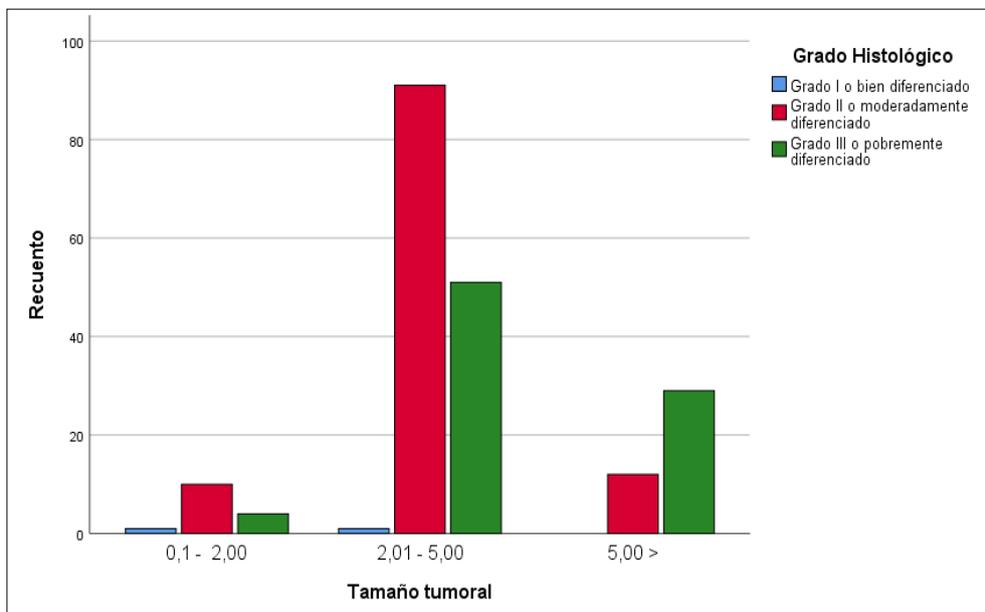
Figura 6. Relación entre el tamaño del tumor y el grado histológico del cáncer de mama

Analizando la asociación entre el grado tumoral y las metástasis ganglionares, se obtuvieron los siguientes hallazgos. Los tumores de grado I solo se presentaron en dos casos (2,7%) en el grupo de tumores sin metástasis en los ganglios linfáticos. Entre los tumores N1, la frecuencia de G2 y G3 se diferenciaron en cada grupo (41,8% y 58,2%).

Un alto número de metástasis en los ganglios linfáticos (entre 4-9, N2 y ≥ 10 , N3, respectivamente) se asoció con tumores de alto grado (Figura 7-A).



A)



B)

Figura 7. Relación entre el estado ganglionar y el grado histológico del cáncer de mama.

Entre los casos de N0 había tumores de grado bajo, intermedio y alto, que comprendían a el 100%, el 59,3% y el 4,8 % del grupo histológico respectivo. Los tumores de grado

intermedio y alto se han presentado con un alto número de metástasis en un número considerable de pacientes: G2/N1 (29,2%) y G3/N1 (54,8%). Sin embargo, los tumores de alto grado se han asociado con un mayor número de metástasis: G3/N3 (3,6 %) y G2/pN3 (0,9%). Los datos se revelan con más detalle en la Figura 7-B. Se identificaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$).

5. DISCUSIÓN GENERAL

Dado que el CM representa un grupo heterogéneo de tumores con características biológicas y clínicas variables, la identificación de marcadores pronósticos y predictivos es, por lo tanto, clínicamente importante. Los receptores de estrógeno y progesterona (RE y RP), determinados por inmunohistoquímica (IHQ), son ampliamente utilizados como marcadores predictivos para la terapia hormonal y como factores pronósticos. El estado de HER2, determinado por IHQ o SISH, indica un peor pronóstico de supervivencia. Se pueden obtener posibles beneficios dirigiendo terapéuticamente a estas moléculas. Recientemente, los estudios de microarrays de expresión génica han demostrado un fuerte poder pronóstico^(164, 165), pero la IHQ sigue siendo un medio conveniente y poderoso de evaluación pronóstica en un entorno clínico, ya que es menos costoso y más fácil de realizar^(166, 167).

Aunque se ha identificado un número creciente de subtipos moleculares clínicamente relevantes, el tratamiento actual para pacientes con CM todavía se complementa con pruebas patológicas e histológicas a través de biomarcadores (por nombrar algunos, Oncotype DX, MapQuant Dx). De hecho, los factores pronósticos o predictivos que se utilizan actualmente no brindan suficiente información para permitir una evaluación precisa del riesgo individual y la planificación del tratamiento, lo que enfatiza la necesidad de buscar otros factores pronósticos y terapéuticos^(168, 169, 170). De ahí la importancia del presente estudio, pues el diagnóstico y tratamiento del CM todavía sigue siendo un enorme desafío de Salud Pública.

Aproximadamente la mitad de todos los nuevos CM se diagnostican en el mundo en etapa de desarrollo, donde el análisis de los factores pronósticos debe ser económico y fácil de replicar. Incluso en el mundo desarrollado, el análisis de micromatriz de ADN todavía tiene que reemplazar por completo la IHQ clásica. Por lo tanto, en ausencia de perfiles de expresión génica de rutina, los marcadores IHQ sustitutos para los subtipos moleculares de CM han surgido como un medio más práctico para caracterizar los tipos de cáncer de mama según el pronóstico y/o la respuesta

diferencial a agentes específicos^(130, 171). Por ejemplo, se ha propuesto un método de marcadores como un sistema sustituto para identificar el CM^(172, 173). Tal enfoque podría tener beneficios prácticos. Además, cada vez es más evidente que el éxito de las nuevas terapias contra el cáncer probablemente dependa del uso de nuevos biomarcadores para detectar a los pacientes que se beneficiarán de un tratamiento en particular⁽¹⁷⁴⁾.

Este estudio sugiere que los subtipos moleculares pueden ser útiles para identificar la heterogeneidad de los resultados clínicos en el CM, lo que podría ayudar al sistema de salud pública y personal médico a mejorar la terapia para sus pacientes. En este sentido, es evidente la relevancia clínica de los subtipos moleculares identificados utilizando marcadores IHQ. Sin embargo, es importante estandarizar la metodología utilizada para la subtipificación molecular y la reproducibilidad. Para ello, se requiere un mayor esfuerzo para que estos avances teóricos sean aceptados por los departamentos de salud y estén disponibles para uso clínico.

5.1 El tipo histológico del cáncer de mama

La composición general del CM por tipos histológicos ha sido destacada anteriormente por varias investigaciones. En el presente estudio, 198 (99,5%) de los 199 tumores primarios de mama eran carcinomas ductales invasivos y solo 1 caso (0,5%) fue un carcinoma lobulillar. No se presentó ningún tipo de cáncer de mama mucinoso, modular, metaplásico, ni ningún otro. El predominio del cáncer de mama ductal también es reconocido por otros investigadores; por ejemplo, Inwald *et al.*⁽¹⁷⁵⁾ analizaron 4.480 mujeres con cáncer de mama invasivo primario y no metastásico, identificando que este tipo histológico suponía el 80,1% de los carcinomas de mama. Por su parte, en una investigación realizada en años recientes, esta tendencia continúa, pues de un total de 117 casos de mujeres diagnosticadas de CM, el 94,7% comprendía de una tipología ductal⁽¹⁷⁶⁾. Como se observa, en la mayoría de los estudios de CM en todo el mundo, el carcinoma ductal invasivo fue el tipo histológico de tumor más dominante en las pacientes.

En el presente estudio, el cáncer de mama ductal es el tipo histológico más frecuente tanto en general como en todos los subtipos moleculares individuales, siguiendo por el cáncer de mama lobular, el cual sólo supone el 0,5%. Los datos relativos a la presencia y el tipo de cáncer de mama pueden caracterizarse como altamente fiables.

La relación entre las proporciones de cáncer de mama ductal y lobular no se mantiene en todos los subtipos moleculares. De hecho, existe una diferencia considerable entre ellos. Además, los siguientes tipos histológicos poco comunes de CM no se observaron en los distintos subtipos moleculares. Sin embargo, se ha reconocido que el cáncer de mama mucinoso no se observa en los grupos de subtipo molecular luminal B (HER2 positivo), HER2 positivo y triple negativo. Esto demuestra que el cáncer de mama mucinoso nunca sobre expresa los receptores HER2, sino que se caracteriza por una expresión preservada de los receptores hormonales y una fracción de proliferación diferente, pero frecuentemente baja. El cáncer de mama medular se caracteriza por la ausencia de sobreexpresión y/o amplificación de HER2 y por una elevada fracción de proliferación que lleva a la clasificación en el grupo triple negativo o luminal B (HER2 negativo). El carcinoma metaplásico es típicamente triple negativo. El carcinoma cribiforme invasivo se clasifica invariablemente en el tipo luminal A^(177, 178). Los datos obtenidos coinciden con otros estudios publicados, pero tienen un alto valor práctico.

El subtipo molecular luminal A comprendía el cáncer de mama ductal en un 54%, correspondiente a 107 mujeres y colocándolo como el subtipo dominante, sin ningún tipo de lobular. De igual manera, el subtipo molecular luminal B incluía solamente casos de cáncer de mama ductal (23%), sin casos de cáncer de mama lobular. El subtipo molecular HER2 positivo muestra relaciones similares entre los tipos histológicos como el subtipo luminal B y triple negativo, pero con un predominio aún más marcado del carcinoma ductal, pues el cáncer de mama ductal constituyó el 39% y un caso de cáncer de mama lobular.

En general, la asociación entre los subtipos moleculares y la frecuencia y el tipo de cáncer in situ apunta hacia una segregación temprana de la cancerología mamaria hacia

diferentes vías patogénicas. La asociación entre el tipo morfológico y el subtipo molecular puede ser clínicamente útil como pista hacia el diagnóstico exacto.

5.2 La propagación local del tumor

El tamaño del tumor se puede determinar con una combinación de hallazgos radiológicos, patológicos macroscópicos y microscópicos. Según la clasificación patológica TNM, los 199 tumores del presente estudio fueron clasificados posteriormente como T1 (0,1 – 2,0 cm) - 14 tumores (7,5%); T2 (2,01 – 5 cm) - 143 tumores (71,9%) y T3 (>5 cm) - 41 tumores (20,6%).

El tamaño de los CM diagnosticados difiere significativamente en muchos estudios, lo que refleja los enfoques del proceso de diagnóstico, así como las propiedades biológicas de los tumores. De cierto modo, en el grupo de estudio descrito por Spitale *et al.*⁽¹⁷⁹⁾, los cánceres T1 dominaban el 62,1% de todos los casos, seguidos por T2 (35,2%) y los T3, los cuales representaban solo el 2,7% de los tumores. Abubakar *et al.*⁽¹⁸⁰⁾, en su investigación, señalan que el T1 es el tamaño de cáncer que dominaba, con un 64%, seguido del T3, con 20%, y el T2, con un 16%. En la investigación de Al-Thoubaity⁽¹⁸¹⁾, el T1 sigue siendo el más frecuente, con un 50,9%, seguido estrechamente del T2, con un 46,1%, y finalmente con el T3, con 3%.

En otros estudios, con un rango de tamaño diferente, se puede observar una tendencia similar. Tal es el estudio de Inwald *et al.*⁽¹⁷⁵⁾, en donde el T1 supone el 60,7%, el T2 el 34,7%, el T3 el 3,7% y el T4 el 0,6%. Por su parte, en la investigación de Medina⁽¹⁵⁶⁾, el T2 fue la variable que predominaba, con un 53,9%, seguido del T1, con 35%, el T3 con un 6,1% y el T4 con el 5%.

No obstante, a conveniencia de la investigación, las frecuencias de T1, T2 y T3 son las frecuencias que tienden a compararse con los datos encontrados en el presente estudio. En lo que corresponde a los subtipos moleculares, el grupo luminal A está formado por T1, 7,5%; T2, 72,9% y T3, 19,6% (8, 78 y 21 pacientes respectivamente). El grupo luminal B comprende cánceres T1, 17,4%; T2, 60,9% y T3, 21,7% (4, 14 y 15

pacientes respectivamente). Por su parte, el grupo del subtipo molecular HER2 positivo: T1, 7,5%; T2, 75,0% y T3, 17,5% (3, 30 y 7 pacientes respectivamente). El CM del subtipo triple negativo mostró datos con predominio de tumores relativamente grandes, pues no existieron pacientes con tamaño del tumor T1, presentando una superioridad en el T2 con 72,4% y el T3 con 27,6% (21 y 8 pacientes respectivamente).

En el estudio realizado por Spitale *et al.*⁽¹⁷⁹⁾, los autores clasificaron los cánceres de mama por TNM y dieron como resultado la siguiente distribución: T1, 62,1%; T2, 35,2% y T3, 2,7%, de todos los casos. Por subtipos moleculares, el grupo luminal A estaba formado por T1, 65,9%; T2, 31,4% y T3, 2,7%. El grupo luminal B comprendía cánceres T1, 58,3% y T2, 41,7%. El grupo del subtipo molecular HER2 positivo mostró datos opuestos, con predominio de tumores relativamente más grandes, que medían entre 2 y 5 cm: T2, 66,0% y T1, 34,0%. El CM de tipo basal (7% de todos los casos) comprendía 130, con un número ligeramente mayor de cánceres T1 (48,1%) que T2 (42,0%), y en algunos casos (9,9%) tenían más de 5 cm de tamaño.

En la investigación de Al-Thoubaity⁽¹⁸¹⁾, que comprendió 740 casos de CM, el 48,9% de los tumores eran T1. Los cánceres T2, que miden entre 2,1 y 5 cm, formaron el 42,6% del grupo de estudio y la frecuencia de T3 fue de 8,5%. En dicho grupo, los subtipos moleculares luminal B, HER2 positivo y triple negativo mostraron los porcentajes más altos de tumores en la frecuencia T2 (50%, 47,1% y 59,8%, respectivamente) a excepción del luminal A (46,1%), el cual era superado ligeramente en la frecuencia T1 (50,9%).

Los resultados obtenidos en el presente estudio son comparables con los datos publicados. En el grupo general, los hallazgos predominantes son las frecuencias encontradas en el cáncer T2. El subtipo luminal A mostró la mayor frecuencia de tumores en T1, T2 y T3. El subtipo molecular luminal B mostró una menor cantidad de tumores en frecuencia del grupo general.

5.3 La evaluación del estado de los ganglios linfáticos axilares

En el presente estudio, se observó N0 en 73 casos (36,7%), N1 en 79 (39,7%), N2 en 43 (21,6%) y N3 en 4 casos (2,0%). No se identificaron casos en donde el estado de los ganglios linfáticos sea indeterminado (Nx). La distribución general de los resultados está dentro del rango publicado, aunque los datos disponibles muestran cierta diversidad por el tamaño de muestras evaluadas. Por ejemplo, en un estudio de 312 casos del Hospital Universitario Sylvanus Olympio, se encontró que el 24,8% de los pacientes presentaban ganglios linfáticos no metastásicos (N0), el 23,1% tenían metástasis en N1, el 8,5% mostraron metástasis en más de 3 ganglios linfáticos, mientras que solo 12 casos tenía metástasis en N3⁽¹⁷⁶⁾.

Por otro lado, la serie de casos del Departamento de Radioterapia, Oncología y Cuidados Paliativos del Hospital General de Sarawak, utilizada para el estudio de validación, incluyó a 3.012 pacientes consecutivas con CM entre 2003 y 2016. Los resultados mostraron que el estado de los ganglios linfáticos fue negativo en 1.517 casos (N0), lo que representa el 46% de la población de estudio; sin embargo, en 1 a 3 ganglios linfáticos se presentó metástasis (28%), aunque había más de 3 ganglios linfáticos comprometidos con metástasis en el 11% de los casos⁽¹⁸⁰⁾.

Otros estudios, como el artículo de investigación publicado por Sahin *et al.*⁽¹⁸²⁾, describen el siguiente estado ganglionar: N0: se presentó en el 44,3% de los 3.654 pacientes evaluados, mientras que N1 en el 29,0%, N2 en el 14,9% y N3 en el 11,9% de los casos, alcanzando una tendencia aparentemente similar a las obtenidas en este estudio.

Por su parte, Sengal *et al.*⁽¹⁸³⁾ analizaron 678 casos. En este grupo, no se encontraron metástasis ganglionar en el 50,5% de los casos, pero se identificaron de 1 a 3 ganglios linfáticos positivos en el 18,9% de los casos, 17,6% en N2 y se encontraron más de 9 ganglios linfáticos comprometidos con metástasis en el 13,1%.

San *et al.*⁽¹⁸⁴⁾ dividieron el CM por metástasis en los ganglios linfáticos como casos positivos o negativos. El estado de los ganglios linfáticos positivos se presentó en el 57,1% de los casos, pero negativo en el 42,9% de los casos. En este estudio, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el estado de los ganglios linfáticos en diferentes subtipos moleculares. en contraste con el presente estudio, como se analiza más adelante.

De igual forma, Preat *et al.*⁽¹⁸⁵⁾ clasificaron 441 estados ganglionares como negativos (76,4%) y positivos (23,6%). Sin embargo, estas y otras características clínico-patológicas no se discutieron en ninguna comparación o forma de investigación.

Bennis *et al.*⁽¹⁸⁶⁾ informaron la presencia de metástasis en los ganglios linfáticos en aproximadamente dos tercios de los ganglios linfáticos investigados (64,6 %), mientras que el otro 35,4 % de los casos no presentó metástasis ganglionar. El estado de los ganglios linfáticos positivos se presentó con mayor frecuencia en todos los subtipos moleculares de CM: luminal A (64%), luminal B (74%), HER2 (65%), basal (55%) y sin clasificar (62,5%). Los resultados fueron similares a los obtenidos en este estudio, aunque de manera diferente, en el caso de luminal A, ya que el estado de ganglios negativos fue más común para este subtipo.

Inwald *et al.*⁽¹⁷⁵⁾, por otro lado, realizaron una investigación completa de los ganglios linfáticos por TNM. A diferencia de los resultados obtenidos en este estudio, los autores reportaron que el grupo N0 comprendió la mayor parte de todos los casos investigados, ya que los casos representaron el 61,8% del total de la población de estudio. Aun así, hubo un 38,2% de casos que presentaron metástasis ganglionar. En cuanto, a la relación con los subtipos IHQ, el predominio de N0 se presentó en todas las expresiones de marcadores IQH del CM.

En el presente estudio predominan los casos comprometidos con metástasis ganglionar en el grupo general, así como en casi todos los subtipos moleculares; con excepción de la expresión luminal A. Se observan datos opuestos en el subtipo molecular triple

negativo y HER2 caracterizado por distribución bimodal: aparición relativamente más frecuente de alto número de metástasis entre los casos N+.

5.4 Grado histológico

Por grado histológico, todos los casos del trabajo de investigación presentado se clasificaron de la siguiente manera: GI = 2 (1%); GII = 113 (56,8%) y GIII = 84 casos (42,2%), de los cuales más de la mitad de los casos (56,8%) presentaron tumores moderadamente diferenciados (GII). Resultados un tanto similares a los aportados por Bonilla-Sepulveda *et al.*⁽¹⁵⁸⁾, en donde, en el luminal A, el 56,8% de los CM fueron de GI, seguido del GII con un 43,2% y sin existencias de GIII. Además, existe un cierto predominio del luminal B, en donde el 14,8% fue GI, el 59,4% GII y el 29,7% en el GIII.

Al-Thoubaily⁽¹⁸¹⁾, por su parte, muestra resultados similares, con un predominio del Grado I = 274 (37,1%), seguido del Grado II = 248 (33,5%) y finalmente el Grado III = 218 (29,4%). En otro estudio similar, el Grado II y Grado III abarcaron el 92,5% de los casos (33,7% y 58,8% respectivamente) e histológicamente, el GI = 55 (15,5%), GII = 176 (49,7%) y GIII = 123 (34,7%)⁽¹⁸⁷⁾.

Por su parte, Bertolo *et al.*⁽¹⁸⁸⁾ presentan datos muy relacionados: G1 = 11 (18%); G2 = 21 (35%) y G3 = 28 (47%) de los casos. En el estudio realizado por Simon *et al.*⁽¹⁸⁹⁾, el GII es el grado dominante y moderadamente diferenciado, con 1.302 casos (56,7%), seguido por el GIII = 38 (22,5%) y 248 casos bien diferenciados, equivalente al 10,8% de los casos; además existieron grados no diferenciados y desconocidos con un porcentaje equivalente al 10%.

En el presente estudio, los subtipos moleculares fueron significativamente diferentes según el grado histológico ($p=0,0002$); el subtipo luminal A mostró predominio, con un mayor porcentaje de casos con Grado histológico 2 (76%), mientras el GI, por su parte mostró un porcentaje muy bajo en todos los subtipos moleculares, luminal A, luminal B, HER2 y triple negativo (1,9%, 0%, 0%, 0% y 1% respectivamente). Algo

similar se observó en el estudio de Spitale *et al.*⁽¹⁷⁹⁾, pues en su clasificación separaron 2 niveles de grados; en el cual se incluyeron el cáncer moderadamente diferenciado (72,9%) y el cáncer mal diferenciado, el cual constituía el 27,1% de los casos. Además, se observaron diferencias significativas entre los subtipos moleculares con respecto al grado histológico ($p < 0,0001$). Los casos de BCL y Her2/neu mostraron la mayor prevalencia de fenotipo pobremente diferenciado (75,9% y 66,7%, respectivamente), mientras que los tumores luminales A fueron más frecuentemente bien/moderadamente diferenciados (84,6%). En el estudio de Adani-Ifè⁽¹⁷⁶⁾ también existió una asociación significativa entre el grado histológico y subtipo molecular ($p < 0,0001$). Los tumores de Grado 2 fueron predominantes (51,3%) seguidos por los de Grado 3 (42,7%) y Grado I, con el 6% de los casos.

5.5 Expresión de los receptores de estrógeno y progesterona

Clasificando todos los CM investigados por positividad o negatividad de RE, hasta el 80% de todos los CM muestran positividad de RE. Por definición, los subtipos moleculares HER2 positivo y triple negativo no expresan positividad a los RE. La presente tesis doctoral también confirma los datos aportados en otros estudios⁽¹⁹⁰⁾.

La proporción de casos positivos para RE fue menor en el estudio realizado por Vallejos *et al.*⁽¹⁹¹⁾. Entre 1.198 casos analizados, los receptores RE se encontraron en el 59,6% de todos los casos, estando ausentes en los subtipos moleculares de CM de tipo basal y HER2. En el subtipo luminal B, el 92,4 % de los casos mostró positividad a RE, pero en el luminal A casi todos los casos fueron positivos: 96,1 %.

La tasa de positividad a RE fue del 55% en el estudio realizado por Lee *et al.*⁽¹⁹²⁾, ya que, entre los 151 casos investigados, se observó positividad del receptor RP en el 39,1% de los casos. Se utilizó un valor de corte del 10% o más de núcleos teñidos positivamente en 10 campos de gran aumento para definir la positividad a ER y PR. En el presente estudio, la evaluación del estado de RE y RP se llevó a cabo de acuerdo con las recomendaciones de la guía ASCO/CAP para pruebas IHC de RE y RP. El caso

de CM se consideró positivo si al menos el 1% de las células tumorales mostraban tinción nuclear positiva de cualquier intensidad^(193, 194).

Los datos sobre la positividad a RP son paralelos a la expresión de RE. Hasta el 70% o más de todos los CM muestran positividad a RP de acuerdo con el presente estudio. La expresión de RP está ausente en el subtipo molecular de cáncer de mama basal y HER2, así como en el 12,4% y el 25,7% de los casos en los subtipos moleculares luminal A y luminal B, respectivamente⁽¹⁹⁵⁾.

5.6 Actividad de proliferación por Ki-67

La alta actividad de proliferación tumoral reconocida por altos niveles de expresión de Ki-67 se asocia con peor pronóstico⁽¹⁹⁶⁾. El marcador de proliferación Ki-67 debe incluirse en la investigación clínica de rutina porque el índice de marcaje es de vital importancia en la distinción entre los subtipos luminal A y luminal B (HER2 negativo). Si no se dispone de una evaluación fiable del índice de marcaje con Ki-67, se puede utilizar alguna medida alternativa de proliferación, como el grado histológico, para hacer esta distinción. El índice de etiquetado Ki-67 presenta desafíos sustanciales, ya que aún se están desarrollando pautas importantes para esta prueba. El punto de corte <14% para el índice de marcaje Ki-67 se estableció en comparación con los subtipos intrínsecos PAM50, lo que significa que una puntuación más alta define tumores luminales B con peor pronóstico^(174, 197).

En cuanto al punto de corte, diferentes investigadores han utilizado distintos valores de cambio de decisión del índice de etiquetado Ki-67. La mayoría de los casos de CM pertenecían al grupo con 5-20% de células positivas para Ki-67⁽¹⁹⁸⁾. Al analizar el índice de marcaje Ki-67 por subtipos moleculares, los subtipos luminales A y B se asociaron con un índice de hasta el 20%⁽¹⁹⁹⁾. El subtipo molecular luminal B también mostró una alta tasa de casos pertenecientes al grupo de proliferación activa reconocido por el índice Ki-67 superior al 20%. Los subtipos moleculares similares a células basales y HER2 se asociaron con un alto índice de marcaje de Ki-67⁽²⁰⁰⁾.

De acuerdo con la evidencia publicada, el presente estudio mostró asociación entre el subtipo luminal A y el bajo índice de marcaje de Ki-67. Todos los demás subtipos se asociaron con un alto índice de etiquetado de Ki-67. Sin embargo, el punto de corte fue del 14% de acuerdo con las recomendaciones recientes de St. Gallen^(174, 197, 201).

5.7 Sobreexpresión de HER2 y la amplificación del gen HER2/neu

Se entiende que las pacientes con CM que sobreexpresan el HER2 tienen más probabilidades de sufrir una recaída y tienden a tener una menor supervivencia global. Según Garrett *et al.*⁽²⁰²⁾, la amplificación del gen HER2/neu y la sobreexpresión de ARN/proteínas están fuertemente correlacionadas. Tras el desarrollo del trastuzumab, que es un anticuerpo monoclonal dirigido a HER2, el estado de amplificación de HER2 se convirtió en un biomarcador altamente predictivo^(203, 204).

La sobreexpresión y amplificación de HER2/neu puede detectarse en aproximadamente el 15% de todos los cánceres de mama primarios, y este grupo de pacientes se beneficia considerablemente de las terapias anti-HER2⁽²⁰⁵⁾. El estado de HER2 debe evaluarse en todos los casos diagnosticados de CM⁽²⁰⁶⁾. En la actualidad, el estado de HER2 se evalúa inicialmente en la mayoría de los casos mediante IHQ, y en los casos de niveles de expresión proteica equívocos, el número de copias del gen HER2/neu se mide mediante técnicas de FISH, SISH o CISH^(207, 208, 209). Además, la detección del estado de HER2, junto con la expresión de RE y RP, es útil para definir los subtipos moleculares. Sin embargo, hay que destacar que los niveles de corte para la positividad de HER2 han cambiado a lo largo de los años.

La positividad de HER2 en el presente estudio se muestra en el 29% de los casos, datos similares a los aportados en otros estudios. Además, se encontró asociación entre la expresión de HER2 y la extensión local del tumor caracterizada por T ($p=0,023$). Esta tendencia se ve reflejada en estudios relacionados, como los de Lee *et al.*⁽¹⁹²⁾, en donde encontraron una correlación entre la sobreexpresión de HER2 y un mayor tamaño del tumor ($p=0,03$). En el presente estudio también se encontró correlación entre el parámetro asociado al estado ganglionar y la sobreexpresión de HER2.

5.8 Inmunohistoquímica y subtipo molecular de cáncer de mama

El CM es la segunda neoplasia más común entre las mujeres en Ecuador, así como en el mundo^(1, 55). Los CM con apariencia histopatológica similar pueden exhibir una presentación clínica diferente, agresividad de la enfermedad y respuesta al tratamiento. Estas diferencias no pueden explicarse completamente por la morfología, por lo que la aplicación de algunas clasificaciones (por ejemplo, la de la OMS) sería limitada. Las investigaciones sistemáticas de los patrones de expresión génica y su correlación con características específicas de la diversidad fenotípica están cambiando la forma de clasificar, a nivel molecular, los fenotipos de los CM, así como de otros tumores^(210, 211, 212). Además, los perfiles de análisis de expresión génica e inmunofenotipo sugieren que el CM no es una entidad única, sino una enfermedad heterogénea, que se compone de un número creciente de subtipos biológicos reconocidos^(213, 214).

Hoy en día, la clasificación de los tumores de mama humanos se desarrolló a través de un agrupamiento jerárquico de genes sobre la base de la similitud en el patrón de expresión^(215, 216). Los CM se clasificaron en al menos cuatro grupos principales, que difieren notablemente en términos de incidencia en distintas razas/etnias, distribución de factores de riesgo, pronóstico, respuesta al tratamiento, resultados clínicos, tasa de supervivencia global, así como supervivencia libre de recaídas: tumores similares a células luminales, subdivididos en luminal A y B, tipo basal y/o fenotipo triple negativo (tumores RE y RP negativos con amplificación de genes generalmente expresados por células basales/mioepiteliales), tumores HER2 (amplificación del gen HER2/neu) y grupo mamario normal^(61, 217, 218).

Publicaciones recientes han demostrado que la clasificación molecular del CM también tiene un importante valor pronóstico⁽¹⁸¹⁾. Se demostró que los tumores luminales A se asocian con un buen pronóstico y un comportamiento menos agresivo en comparación con los grupos de tipo basocelular o HER2/neu^(219, 220). El subtipo de células basales se ha asociado con un comportamiento agresivo, malos resultados clínicos y falta de respuesta a las terapias endocrinas habituales, una supervivencia más corta y presencia de mutaciones BRCA1^(221, 222). Varios estudios han demostrado

que los carcinomas de mama se pueden estratificar en subtipos similares a los definidos por el perfil de expresión utilizando un panel de marcadores IHQ^(172, 214, 223).

La subtipificación del CM mediante micromatrices de ADN para el análisis de la expresión génica es la mejor forma de realizar una clasificación molecular, pero no siempre es factible obtener información de matrices de expresión génica de acuerdo con los altos costes o la inaccesibilidad de los tejidos frescos, por lo que se ha adoptado la clasificación simplificada como una abreviatura útil^(175, 224).

Los subtipos moleculares definidos por criterios clínico-patológicos son similares, pero no idénticos a los subtipos intrínsecos, y representan una aproximación conveniente. Este enfoque utiliza la definición inmunohistoquímica de RE y RP, la detección de sobreexpresión y/o amplificación del gen HER2/neu y el índice de marcaje Ki-67, un marcador de proliferación celular, como medio para identificar subtipos de tumores. Claramente, esta clasificación clínico-patológica requiere la disponibilidad de mediciones confiables de sus componentes individuales. Se han publicado directrices para la determinación de RE y RP y para la detección de positividad de HER2^(194, 225, 226, 227). El índice de Ki-67 presenta desafíos más importantes, pero aún se están desarrollando pautas importantes para esta prueba^(228, 229, 230).

La evaluación IHQ de rutina de los CM puede proporcionar no solo información crucial para guiar el manejo clínico, sino que también representa una alternativa válida a los costosos ensayos de genotipado. La relación entre los marcadores IHQ y la capacidad de respuesta a los tratamientos terapéuticos ha sido ampliamente estudiada^(231, 232, 233). Los sistemas de clasificación basados en IHQ siguen siendo útiles en la práctica clínica y se ha demostrado que se correlacionan bien con la clasificación intrínseca utilizando microarrays de expresión génica: ER/PR+, HER2+ con luminal B; ER/PR+, HER2- con luminal A; ER/PR-, HER2+ con HER2 positivo y ER/PR-, HER2- con tumores triple negativos/tipo basal^(172, 214, 234, 235).

En 2011, se adoptó el enfoque para la clasificación de pacientes con fines terapéuticos basado en el reconocimiento de subtipos biológicos intrínsecos dentro del espectro del CM⁽²³⁶⁾. Hasta la actualidad, esta clasificación se mantiene como una importante estrategia que busca brindar orientación a los profesionales sanitarios sobre los tratamientos apropiados para el CM y orientación para sopesar las compensaciones realistas entre el tratamiento y la toxicidad para que los pacientes^(174, 197). Los subtipos intrínsecos de cáncer de mama son luminal A y B, HER2 sobreexpresado y de tipo basal, pero la clasificación sustituta clínico-patológica correspondiente con definiciones de subtipos intrínsecos incluye luminal A, luminal B (HER2 negativo), luminal B (HER2 positivo), HER2 cáncer de mama positivo (no luminal) y triple negativo⁽²³⁷⁾.

En el presente trabajo se detectaron los subtipos moleculares de CM según esta clasificación y datos IHQ. La mayoría de los casos pertenecieron al subtipo luminal A (53,8%), seguido del subtipo HER2 (20.1%). El subtipo de cáncer de mama triple negativo constituyó el 14,5%, mientras que solo el 11,6% de los tumores se clasificaron como luminal B. Desde su presentación en la Conferencia Internacional de Cáncer de Mama en St. Gallen, la clasificación IHQ se ha ido ampliando, y varios científicos han publicado datos basados en ella, con el objetivo desarrollar enfoques sustitutivos que contribuyan al pronóstico y terapéutica adecuada de esta enfermedad.

5.9 Edad y subtipo molecular

En el presente estudio se incluyeron 199 pacientes femeninas con carcinoma de mama. La edad media \pm DE fue de $56,77 \pm 12,22$ años. La edad de las pacientes oscilaba entre los 27 y los 91 años. En relación a la edad con los subtipos moleculares existieron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$), sobre todo en los rangos que oscilaban dentro del período pre y posmenopáusico, es decir, desde los 40 años hasta 60 años, tanto para el subtipo luminal A como para HER2. En relación con la población ecuatoriana, la edad media de los pacientes estuvo dentro del rango reportado por los informes de Ulloa *et al.*⁽²³⁸⁾ y Vela *et al.*⁽¹²⁹⁾.

Por otro lado, estos datos se encuentran dentro del intervalo de los estudios mencionados anteriormente, en donde la edad media oscilaba entre 20 y 90 años. Tal es el caso del estudio realizado por Sengal⁽¹⁸³⁾, en el que se evaluaron 678 casos de CM, siendo la edad media de las pacientes de 48.8 ± 0.53 años. Después de clasificar el CM por subtipo molecular y edad en mayores y menores de 50 años, se encontró que, en los grupos de fenotipo basal, luminal A y HER2 predominaron los pacientes menores de 50 años, mientras que el luminal B preponderó en pacientes > 50 años.

Bertolo *et al.*⁽¹⁸⁸⁾, por su parte, analizaron 64 mujeres diagnosticadas de CM, de edades comprendidas entre 43 y 84 años (media + DE, $68,5 + 14,4$ años). En un estudio con una muestra mayor (1.134 pacientes), la edad media fue de $62,7 \pm 13,8$ años. De acuerdo con el subtipo molecular, luminal A o ER/PR+ y el grupo HER2- contenían pacientes con la edad más alta ($64,4 \pm 13,2$ años respectivamente). El grupo molecular HER2 incluía pacientes con una edad de $59,9 \pm 12,7$ años, pero ER/PR+, HER2 y ER/PR-, HER2- incluían pacientes con la edad media de $58,9 \pm 14,6$ y $58,1 \pm 14,7$ años, respectivamente⁽²³⁹⁾.

En el estudio de Al-Thoubaity *et al.*⁽¹⁸¹⁾, se examinaron un total de 740 casos de CM, y la edad media de las pacientes en el momento del diagnóstico era de 49 años (DE de 12,28). Las pacientes cuya edad era inferior a 50 años tenían una mayor probabilidad de mostrar un mayor tamaño tumoral ($p=0,036$, OR = 1,613, IC del 95%, 1,030-2,526) que las pacientes que tenían 60 años o más. Además, se observó una mayor frecuencia (66-70,5%) de tumores HER2 positivos y triples negativos en comparación con los tumores luminales, en los pacientes cuya edad era inferior a 50 años.

En el estudio Kondov *et al.*⁽²⁰¹⁾ se evaluaron a 290 pacientes con CM, subdividiendo los grupos de estudio en luminal A y B, con sobreexpresión de HER2 y triple negativo. La edad media del grupo luminal fue de 58,1 años, mientras que la edad media del grupo de sobreexpresión de HER2 fue de 55,72 años. Los casos triple negativos incluyeron pacientes con una edad promedio de 56,74 años.

Asimismo, de acuerdo con otros estudios, la media de edad más alta se encuentra en el grupo del subtipo molecular luminal A, seguido del subtipo molecular luminal B (HER2 negativo) y del grupo HER2 positivo. La edad media más baja se observa en el grupo luminal B (HER2 positivo) y en el grupo triple negativo. Varios investigadores han aplicado la clasificación del cáncer de mama por subtipos moleculares incluyendo 4 categorías ^(130, 131, 132, 174, 197).

5.10 Aportaciones y relevancia que supone el estudio para la práctica clínica

Este estudio ha permitido conocer la prevalencia de los subtipos moleculares del CM en la zona 8 de Ecuador. Para el estudio, se tomó en consideración el perfil genómico de esta enfermedad en relación con aspectos clínicos e histológicas de la patología, lo que contribuyó a esclarecer la heterogeneidad de los resultados clínicos. Los subtipos moleculares aportan valor pronóstico y permiten trazar las conductas de tratamiento, así como personalizar la terapéutica, evitando los sobretamientos y, de este modo, la disminución de los efectos adversos.

Los resultados de la presente investigación pueden generar un importante impacto social entre las pacientes con CM en Ecuador, como principales beneficiarias, así como para sus familias. En este sentido, considerar los aportes de este estudio puede favorecer la aplicación de un adecuado tratamiento, con una disminución de los costes y de los tratamientos innecesarios. De hecho, el estudio propone un perfil de tratamiento a través de la clasificación IHQ del CM con énfasis a la práctica clínica (Figura 9). La propuesta tiene sustento en varias bases científicas^(159, 174) y, aunque se deberían realizar más estudios para dilucidar las aportaciones de este modelo, resulta importante no solo en el caso del CM, sino también su posible replicación en otros tipos de tumores o carcinomas que cada año se cobran la vida de muchas personas. Por este motivo, esta investigación contribuye a la construcción de conocimiento científico en el ámbito de la medicina, específicamente en una enfermedad que afecta a gran parte de la población mundial.

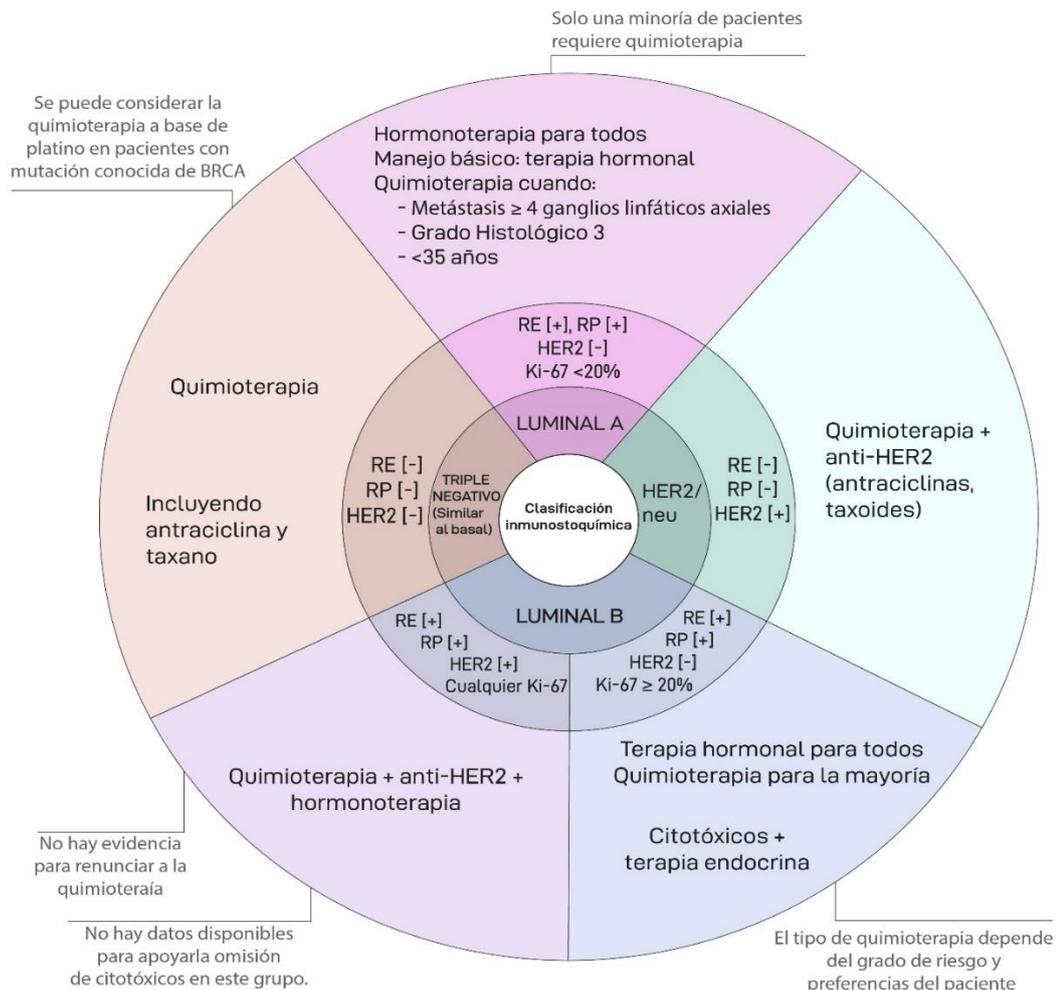


Figura 8. Recomendaciones de tratamiento sistémico según el subtipo molecular de cáncer de mama.

Hay que subrayar que el estudio fue realizado en pacientes procedentes de una institución pública del tercer nivel, donde se atienden pacientes de bajos ingresos económicos. Estas instituciones públicas del Ministerio de Salud atienden pacientes que no tienen seguros médicos y donde los recursos de salud son proporcionados por el Estado. De esta manera, las contribuciones derivadas de este estudio permitirán planificar los recursos médicos de forma más austera y contribuir a tener un mayor alcance en el diagnóstico y la terapéutica.

El predominio del diagnóstico de la enfermedad en etapas avanzadas llama a la reflexión en la toma de medidas para su diagnóstico temprano. En este sentido, se trata de un estudio novedoso, dado que, en Ecuador, los estudios sobre la prevalencia molecular del CM y su relación con aspectos clínicos-histológicos son muy escasos.

5.11 Limitaciones del estudio

A pesar de que estos resultados son prometedores y pueden ofrecer una alternativa a la práctica clínica, es importante mencionar que existen algunas limitaciones, como las que se mencionan a continuación:

1. La población de estudio es reducida en comparación a otros estudios, por lo cual los resultados no se pueden generalizar a la población en general y deben interpretarse con cautela. De hecho, es importante resaltar que los sistemas de salud de cada país puedan generar bases de datos mucho mayores para poder identificar la importancia y beneficio de esos marcadores en la práctica clínica habitual.
2. Otra limitación puede ser la identificación incompleta o imprecisa de la raza o el origen étnico de las pacientes. No obstante, este tipo de investigaciones, especialmente si se realizan con un gran número de pacientes, pueden mostrar tendencias o resaltar áreas que merecen más investigación y que no son evidentes en estudios con una muestra mucho menor. De hecho, creemos que nuestro estudio es valioso debido a la similitud que presenta con otros estudios informados con poblaciones y rasgos diferentes (europeos, asiáticos, norteamericanos y sudamericanos), por lo que la relevancia clínica de estos marcadores se podría utilizar en diferentes países y continentes.
3. La falta de un método de predicción de clase molecular estandarizado es importante para la subtipificación molecular y la reproducibilidad, pues aún existen debates científicos en relación a las clases moleculares

de CM existentes. De hecho, una pregunta más práctica sería, ¿cuántas clases se pueden identificar de forma fiable con los datos actualmente disponibles? Por tanto, se requiere un mayor esfuerzo para que estos avances teóricos sean aceptados por los departamentos de salud y estén disponibles para uso clínico.

4. Existen otras expresiones de los biomarcadores que no se han aplicado en este estudio, como la proteína p53 aberrante, la oncoproteína BCL2, la proteína ciclooxigenasa-2, la sobreexpresión de ciclina D o diferenciación basal por citoqueratina 5/6.

6. CONCLUSIONES

1. El cáncer de mama puede clasificarse en tipos moleculares mediante la inmunohistoquímica para ER, PR, actividad de proliferación y proteína HER2. El carcinoma luminal A es el tumor más prevalente (53,8%) en la población ecuatoriana estudiada, seguidos de HER2 (20,1%), triple negativo (14,5%) y luminal B (11,60%), respectivamente.
2. La neoplasia mamaria se diagnostica en estadios avanzados (etapa clínica II y III, tamaño tumoral T2, grado histológico II y con metástasis ganglionar en 1 a 3 ganglios linfáticos) y con mayor prevalencia en pacientes con edades que oscilan entre 39 a 77 años. La edad media de los pacientes de este estudio fue de $56,77 \pm 11,96$ años.
3. Se realizó una clasificación molecular del cáncer de mama y se relacionó con las características clínicas, patológicas e histológicas de pacientes diagnosticados con esta patología, encontrando diferencias significativas ($p < 0,005$) en todos sus niveles.
4. Los subtipos moleculares difieren según el volumen tumoral, estado ganglionar y la extensión local del tumor.
5. Se pudo observar que la proporción de T2 y T3 fue ligeramente alta en los subtipos HER2 (15,08%) y triple negativo (4,02%), respectivamente, aunque menores a los de luminal A. En cuanto a la significación estadística, se revela una mayor proporción ($p < 0,001$) del subtipo molecular luminal A.
6. Se determinó una relación de los patrones genómicos del cáncer de mama con las características clínicas e histológicas de los pacientes, pudiendo observar diferencias significativas con la edad ($p < 0,001$), tamaño del tumor ($p < 0,023$),

grado histológico ($p < 0,001$) y el estado ganglionar ($p < 0,001$), aunque no se encontraron diferencias con el tipo histológico ($p = 0,262$).

7. Se pudo determinar que la clasificación de subtipos moleculares permite proporcionar tratamientos personalizados para cada subtipo molecular.
8. Los resultados enfatizan en la necesidad de introducir las pruebas de receptores inmunohistoquímicas en la práctica clínica para ayudar y determinar la biología del cáncer de mama, lo que contribuiría a mejorar el efecto sobre la terapia y el pronóstico del paciente.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Sung H, Ferlay J, Siegel R, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2021; 71(3): 209-249.
2. Hassanpour S, Dehghani M. Review of cancer from perspective of molecular. *Journal of Cancer Research and Practice*. 2017; 4(4): 127-129.
3. Ruijtenberg S, van den Heuvel S. Coordinating cell proliferation and differentiation: Antagonism between cell cycle regulators and cell type-specific gene expression. *Cell Cycle*. 2016; 15(2): 196-212.
4. Aunan J, Cho W, Søreide K. The Biology of Aging and Cancer: A Brief Overview of Shared and Divergent Molecular Hallmarks. *Aging and Disease*. 2017; 8(5): 628-642.
5. Sever R, Brugge J. Signal transduction in cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2015; 5(4): a006098.
6. Alhmoud JF, Woolley JF, Al Moustafa AE, Malki MI. DNA Damage/Repair Management in Cancers. *Cancers*. 2020; 12(4): 1050.
7. Zhang J, Chen Y, Lu Q. Pro-oncogenic and anti-oncogenic pathways: opportunities and challenges of cancer therapy. *Future Oncology*. 2010; 6(4): 587-603.
8. Burotto M, Chiou VL, Lee JM, Kohn EC. The MAPK pathway across different malignancies: A new perspective. *Cancer*. 2014; 120(22): 3446-3456.
9. Mehrgou A, Akouchekian M. The importance of BRCA1 and BRCA2 genes mutations in breast cancer development. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*. 2016; 30: 369.
10. Morris L, Chan T. Therapeutic targeting of tumor suppressor genes. *Cancer*. 2015; 121(9): 1357-1368.
11. Nguyen HT, Duong HQ. The molecular characteristics of colorectal cancer: Implications for diagnosis and therapy. *Oncology Letters*. 2018; 16(1): 9-18.

12. Lee EY, Muller WJ. Oncogenes and tumor suppressor genes. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2010; 2(10): a003236.
13. Guo XE, Ngo B, Modrek AS, Lee WH. Targeting tumor suppressor networks for cancer therapeutics. *Current Drug Targets*. 2014; 15(1): 2-16.
14. Datta N, Chakraborty S, Basu M, Ghosh M. Tumor suppressors having oncogenic functions: The Double Agents. *Cells*. 2020; 10(1): 46.
15. Liu S, Medina-Perez P, Ha-Thi M, Wieland A, Stecklum M, Hoffmann J, et al. Rapid testing of candidate oncogenes and tumour suppressor genes in signal transduction and neoplastic transformation. *Advances in Biological Regulation*. 2022; 83: 100841.
16. Trigoufas AS, Pearson RB, Papenfuss AT, Goode DL. Altered interactions between unicellular and multicellular genes drive hallmarks of transformation in a diverse range of solid tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017; 114(24): 6406-6411.
17. Trotta AP, Chipuk JE. Mitochondrial dynamics as regulators of cancer biology. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2017; 74(11): 1999-2017.
18. Kontomanolis E, Koutras A, Syllaios A, Schizas D, Mastoraki A, Garmpis N, et al. Role of oncogenes and tumor-suppressor genes in carcinogenesis: A Review. *Anticancer Research*. 2020; 40(11): 6009-6015.
19. Myszczyzyn A, Czarnecka A, Matak D, Szymanski L, Lian F, Kornakiewicz A, et al. The role of hypoxia and cancer stem cells in renal cell carcinoma pathogenesis. *Stem Cell Reviews and Reports*. 2015;11(6): 919-943.
20. Onyekachi O, Ebidor U, Maxwell O. The Role of Transglutaminase 2 (TG2) in Definition of Cancer Hallmarks. *British Journal of Medicine and Medical Research*. 2015; 6(3): 297.
21. Rodrigues A, Pereira S, Ramalho-Santos J. Stem metabolism: Insights from oncometabolism and vice versa. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2020; 1866(7): 165760.
22. Uthamacumaran A. A biophysical approach to cancer dynamics: Quantum chaos and energy turbulence. *Biosystems*. 2017; 156-157: 1-22.

23. Sasahira T, Kirita T. Hallmarks of Cancer-Related Newly Prognostic Factors of Oral Squamous Cell Carcinoma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018; 19(8): 2413.
24. de Oliveira JC, Oliveira LC, Mathias C, Pedroso GA, Lemos DS, Salviano-Silva A, et al. Long non-coding RNAs in cancer: Another layer of complexity. *The Journal of Gene Medicine*. 2019; 21(1): e3065.
25. Bugter JM, Fenderico N, Maurice MM. Mutations and mechanisms of WNT pathway tumour suppressors in cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2021; 21(1): 5-21.
26. Welch DR, Hurst DR. Defining the Hallmarks of Metastasis. *Cancer Research*. 2019; 79(12): 3011-3027.
27. Pradella D, Naro C, Sette C, Ghigna C. EMT and stemness: flexible processes tuned by alternative splicing in development and cancer progression. *Molecular Cancer*. 2017; 16(1): 8.
28. Welch DR, Hurst DR. Beyond the Primary Tumor: Progression, Invasion, and Metastasis. In: Coleman WB, Tsongalis GJ, editors. *The Molecular Basis of Human Cancer*. New York: Springer New York; 2017. p. 203-216.
29. Paňková K, Rösel D, Novotný M, Brábek J. The molecular mechanisms of transition between mesenchymal and amoeboid invasiveness in tumor cells. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2010; 67(1): 63-71.
30. Biswas SK, Banerjee S, Baker GW, Kuo CY, Chowdhury I. The mammary gland: Basic structure and molecular signaling during development. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(7): 3883.
31. Cowin P, Wysolmerski J. Molecular mechanisms guiding embryonic mammary gland development. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2010; 2(6): a003251.
32. Sun SX, Bostanci Z, Kass RB, Mancino AT, Rosenbloom AL, Klimberg VS, et al. Breast physiology: Normal and abnormal development and function. In: Bland KI, Copeland EM, Klimberg VS, Gradishar WJ, editors. *The Breast*. Philadelphia: Elsevier; 2018. p. 37-56.
33. Akram M, Iqbal M, Daniyal M, Khan AU. Awareness and current knowledge of breast cancer. *Biological Research*. 2017; 50(1): 33.

34. Lopez ME, Olutoye OO. Breast Embryology, Anatomy, and Physiology. In: Ledbetter DJ, Johnson PRV, editors. *Endocrine Surgery in Children*. Berlin: Springer Berlin Heidelberg; 2018. p. 365-376.
35. Boyd NF, Martin LJ, Bronskill M, Yaffe MJ, Duric N, Minkin S. Breast tissue composition and susceptibility to breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 2010; 102(16): 1224-1237.
36. McNally S, Stein T. Overview of Mammary Gland Development: A Comparison of Mouse and Human. In: Martin F, Stein T, Howlin, J, editors. *Methods in Molecular Biology*. New York: Humana Press; 2017; p. 1-17.
37. Cristea S, Polyak K. Dissecting the mammary gland one cell at a time. *Nature Communications*. 2018; 9(1): 2473.
38. Lynch MD, Cariati M, Purushotham AD. Breast cancer, stem cells and prospects for therapy. *Breast Cancer Research*. 2006; 8(3): 211.
39. Ruiz-Delgado I, Ortiz-Hidalgo C. ¿Son las células mioepiteliales las responsables del carcinoma mamario invasor? Estructura y características inmunohistoquímicas generales de las células mioepiteliales y su interrelación en el carcinoma de la glándula mamaria. *Revista Latinoamericana de Patología*. 2018; 56(3): 216-228.
40. Elias S, Morgan MA, Bikoff EK, Robertson EJ. Long-lived unipotent Blimp1-positive luminal stem cells drive mammary gland organogenesis throughout adult life. *Nature Communications*. 2017; 8(1): 1714.
41. Fu NY, Nolan E, Lindeman GJ, Visvader JE. Stem cells and the differentiation hierarchy in mammary gland development. *Physiological Reviews*. 2020; 100(2): 489-523.
42. Jiménez-Gaona Y, Rodríguez-Álvarez M, Lakshminarayanan V. Deep-Learning-Based Computer-Aided Systems for Breast Cancer Imaging: A Critical Review. *Applied Sciences*. 2020; 10(22): 8298.
43. Johnson MC, Cutler ML. Anatomy and Physiology of the Breast. In: Jatoi I, Rody A, editors. *Management of Breast Diseases*. Cham: Springer International Publishing; 2016. p. 1-39.

44. Gutiérrez M, Baulies S, Tresserra F, Browne JL, Garcia M, Ara C, et al. Carcinoma escamoso con cambios quísticos asociado a embarazo. *Revista de Senología y Patología Mamaria*. 2020; 33(3): 108-111.
45. Watson CJ, Khaled WT. Mammary development in the embryo and adult: a journey of morphogenesis and commitment. *Development*. 2008; 135(6): 995-1003.
46. Davis B, Fenton S. Mammary Gland. In: Haschek WM, Rousseaux CG, Wallig MA, editors. *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology*. Boston: Academic Press; 2013. p. 2665-2694.
47. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*. 2015; 136(5): E359-E386.
48. Harbeck N, Penault-Llorca F, Cortes J, Gnant M, Houssami N, Poortmans P, et al. Breast cancer. *Nature Reviews Disease Primers*. 2019; 5(1): 66.
49. Suresh PK. Breast Cancer Heterogeneity: A focus on Epigenetics and In Vitro 3D Model Systems. *Cell Journal*. 2018; 20(3): 302-311.
50. Place A, Jin Huh S, Polyak K. The microenvironment in breast cancer progression: biology and implications for treatment. *Breast Cancer Research*. 2011; 13(6): 227.
51. Feng Y, Spezia M, Huang S, Yuan C, Zeng Z, Zhang L, et al. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. *Genes & Diseases*. 2018; 5(2): 77-106.
52. Sharma GN, Dave R, Sanadya J, Sharma P, Sharma KK. Various types and management of breast cancer: an overview. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 2010; 1(2): 109.
53. Organización Mundial de la Salud (OMS). *Cáncer de mama*. Washington: OMS; 2021. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>.
54. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin D, Piñeros M, Znaor A, et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *International Journal of Cancer*. 2021; 149(4): 778–89.

55. Ministerio de Salud Pública (MSP). *Cifras de Ecuador – Cáncer de Mama*. Quito: MSP. Available from: <https://www.salud.gob.ec/cifras-de-ecuador-cancer-de-mama>.
56. MSP. *MSP fortalece la prevención en el Día Mundial contra el Cáncer de Mama en mujeres*. Quito: MSP; 2020. Available from: <https://www.salud.gob.ec/msp-fortalece-la-prevencion-en-el-dia-mundial-contra-el-cancer-de-mama-en-mujeres/>.
57. International Agency for Research on Cancer (IARC). *Estimated age-standardized incidence and mortality rates (World) in 2020, worldwide, both sexes, all ages*. Lyon: Cancer Today-IARC; 2020. Available from: <https://bit.ly/2ZJwMhC>.
58. Bucheli C, Alarcón DF, Montes K. Modelo de regresión de Cox para análisis de supervivencia en pacientes con cáncer de mama en la provincia de Manabí, Ecuador. *Bionatura, Latin American Journal of Biotechnology and Life Sciences*. 2021; 6(3): 2031-2037.
59. Khan N, Tirona M. An updated review of epidemiology, risk factors, and management of male breast cancer. *Medical Oncology*. 2021; 38(4): 1-8.
60. Dall GV, Britt KL. Estrogen Effects on the Mammary Gland in Early and Late Life and Breast Cancer Risk. *Frontiers in Oncology*. 2017; 7: 110.
61. Łukasiewicz S, Czezelewski M, Forma A, Baj J, Sitarz R, Stanisławek A. Breast Cancer-Epidemiology, Risk Factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies-An Updated Review. *Cancers*. 2021; 13(17): 4287.
62. Momenimovahed Z, Salehiniya H. Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. *Breast Cancer: Targets and Therapy*. 2019; 11: 151–164.
63. Thakur P, Seam RK, Gupta MK, Gupta M, Sharma M, Fotedar V. Breast cancer risk factor evaluation in a Western Himalayan state: A case-control study and comparison with the Western World. *South Asian Journal of Cancer*. 2017; 6(3): 106-109.

64. Kim Y, Yoo K, Goodman M. Differences in incidence, mortality and survival of breast cancer by regions and countries in Asia and contributing factors. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2015; 16(7): 2857-2870.
65. McGuire A, Brown JA, Malone C, McLaughlin R, Kerin MJ. Effects of age on the detection and management of breast cancer. *Cancers*. 2015; 7(2): 908-929.
66. Giordano SH. Breast Cancer in Men. *The New England Journal of Medicine*. 2018; 378(24): 2311-2320.
67. Zhang X, Tworoger SS, Eliassen AH, Hankinson SE. Postmenopausal plasma sex hormone levels and breast cancer risk over 20 years of follow-up. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2013; 137(3): 883-892.
68. Meo SA, Suraya F, Jamil B, Al Rouq F, Meo AS, Sattar K, et al. Association of ABO and Rh blood groups with breast cancer. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2017; 24(7): 1609-1613.
69. Saxena S, Chawla VK, Gupta KK, Gaur KL. Association of ABO blood group and breast cancer in Jodhpur. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2015; 59(1): 63-68.
70. Flavarjani A, Hedayatpour B, Bashardoost N, Nourian S. Study of the association between blood types and breast cancer among Isfahanian women with breast cancer. *Advanced Biomedical Research*. 2014; 3: 43.
71. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC). *¿Cuáles son los factores de riesgo del cáncer de mama?*. Atlanta: CDC; 2021. Available from: https://www.cdc.gov/spanish/cancer/breast/basic_info/risk_factors.htm.
72. Riverón-Carralero W, Rodríguez K, Ramírez M, Góngora-Gómez O, Molina L. Intervención educativa sobre cáncer de mama. *Revista Cubana de Medicina General Integral*. 2021; 37(1): e1354
73. Osorio N, Bello C, Vega L. Factores de riesgo asociados al cáncer de mama. *Revista Cubana de Medicina General Integral*. 2020; 36(2): e1147.
74. Gonzalez-Angulo AM, Timms KM, Liu S, Chen H, Litton JK, Potter J, et al. Incidence and outcome of BRCA mutations in unselected patients with triple receptor-negative breast cancer. *Clinical Cancer Research*. 2011; 17(5): 1082-1089.

75. Aleskandarany M, Caracappa D, Nolan CC, Macmillan RD, Ellis IO, Rakha EA, et al. DNA damage response markers are differentially expressed in BRCA-mutated breast cancers. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2015; 150(1): 81-90.
76. McCready J, Arendt L, Rudnick J, Kuperwasser C. The contribution of dynamic stromal remodeling during mammary development to breast carcinogenesis. *Breast Cancer Research*. 2010; 12(3): 205.
77. McCready J, Arendt L, Glover E, Iyer V, Briendel J, Lyle S, et al. Pregnancy-associated breast cancers are driven by differences in adipose stromal cells present during lactation. *Breast Cancer Research*. 2014; 16(1): R2.
78. Radisky DC, Hartmann LC. Mammary involution and breast cancer risk: transgenic models and clinical studies. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 2009; 14(2): 181-191.
79. Vela-Ruiz JM, Ferrer-Ponce DI, Sotelo MJ, Bustamante-Coronado R, León-Nué N. Bilateral breast carcinoma in visceral crisis. *Revista de la Facultad de Medicina Humana*. 2021; 21(3): 646-653.
80. Nall R, Azu M. *¿Qué otras señales de cáncer de mama existen además de una protuberancia?*. Brighton: Medical News Today; 2021. Available from: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/es/signos-de-cancer-de-mama#conclusion>
81. Arellano ND, Páez LI. Breast cancer metastasis as a cholangiocarcinoma or Klatskin-like lesion. *Anales de la Facultad de Ciencias Médicas (Asunción)*. 2021; 54(2): 145-150.
82. Vargas RF, Estrada H, Zakzuk J, Alvis N. Epistemología del cáncer de mama: comprendiendo su origen para anticipar su desenlace. *Revista Colombiana de Cancerología*. 2021; 25(2): 65-78.
83. Clark AG, Vignjevic DM. Modes of cancer cell invasion and the role of the microenvironment. *Current Opinion in Cell Biology*. 2015; 36: 13-22.
84. Nathanson SD, Detmar M, Padera TP, Yates LR, Welch DR, Beadnell TC, et al. Mechanisms of breast cancer metastasis. *Clinical & Experimental Metastasis*. 2022; 39(1): 117-137.

85. Arvelo F, Cotte C. Metaloproteasas en la progresión tumoral: Revisión. *Investigación clínica*. 2006; 47(2): 185-205.
86. He Z, Chen Z, Tan M, Elingarami S, Liu Y, Li T, et al. A review on methods for diagnosis of breast cancer cells and tissues. *Cell Proliferation*. 2020; 53(7): e12822.
87. Robson M, Im S-A, Senkus E, Xu B, Domchek SM, Masuda N, et al. Olaparib for metastatic breast cancer in patients with a germline BRCA mutation. *New England Journal of Medicine*. 2017; 377(6): 523-533.
88. Cárdenas-Sánchez J, Valle-Solís A, Arce-Salinas C, Bargalló-Rocha J, Bautista-Piña V, Cervantes-Sánchez G, et al. Consenso mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. *Gaceta Mexicana de Oncología*. 2019; 18(3): 1.
89. Tresserra F, Ara C, Montealegre P, Martínez M, Fábregas R, Pascual M. Indicadores de calidad en el diagnóstico y tratamiento del cáncer para unidades de mama: encuesta nacional. *Revista de Senología y Patología Mamaria*. 2017; 30(2): 45-51.
90. Barber MJ, Berdinelli D, Beccar Varela E, Montoya D, Morris B, Costantino MF, et al. Impacto del diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama en la calidad de vida de las pacientes. *Revista Argentina de Mastología*. 2018; 37(136): 57-90.
91. Weaver O, Leung J. Biomarkers and Imaging of Breast Cancer. *American Journal of Roentgenology*. 2018; 210(2): 271-278.
92. Berse B, Lynch J. Molecular diagnostic testing in breast cancer. *Seminars in Oncology Nursing*. 2015; 31(2): 108-121.
93. Pareja F, Marchiò C, Reis-Filho J. Molecular diagnosis in breast cancer. *Diagnostic Histopathology*. 2018; 24(2): 71-82.
94. Park S, Ahn S, Kim JY, Kim J, Han HJ, Hwang D, et al. Blood Test for Breast Cancer Screening through the Detection of Tumor-Associated Circulating Transcripts. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(16): 9140.
95. National Cancer Institute (NIH). *Cómo se diagnostica el cáncer*. NIH; 2019. Available from: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/diagnostico-estadificacion/diagnostico>.

96. NIH. *Riesgo de muerte por cáncer de seno es bajo después de diagnóstico de carcinoma ductal in situ*. NIH; 2015. Available from: <https://www.cancer.gov/espanol/noticias/temas-y-relatos-blog/2015/cdis-riesgo-bajo>.
97. Berry DA, Cronin KA, Plevritis SK, Fryback DG, Clarke L, Zelen M, et al. Effect of screening and adjuvant therapy on mortality from breast cancer. *The New England Journal of Medicine*. 2005; 353(17): 1784-1792.
98. Pace LE, Keating NL. A systematic assessment of benefits and risks to guide breast cancer screening decisions. *Journal of the American Medical Association (JAMA)*. 2014; 311(13): 1327-1335.
99. Ayer T. Inverse optimization for assessing emerging technologies in breast cancer screening. *Annals of Operations Research*. 2015; 230(1): 57-85.
100. Riedl C, Luft N, Bernhart C, Weber M, Bernathova M, Tea M, et al. Triple-modality screening trial for familial breast cancer underlines the importance of magnetic resonance imaging and questions the role of mammography and ultrasound regardless of patient mutation status, age, and breast density. *Journal of Clinical Oncology*. 2015; 33(10): 1128-1135.
101. Glaser K, Manduca A, Ehman R. Review of MR elastography applications and recent developments. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2012; 36(4): 757-774.
102. Candelaria R, Fornage B. Second-look US examination of MR-detected breast lesions. *Journal of Clinical Ultrasound*. 2011; 39(3): 115-121.
103. Sun YS, Zhao Z, Yang ZN, Xu F, Lu HJ, Zhu ZY, et al. Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. *International Journal of Biological Sciences*. 2017; 13(11): 1387-1397.
104. Chlebowski RT. Current concepts in breast cancer chemoprevention. *Polish Archives of Internal Medicine*. 2014; 124(4): 191-199.
105. Steward WP, Brown K. Cancer chemoprevention: a rapidly evolving field. *British Journal of Cancer*. 2013; 109(1): 1-7.
106. Nielsen D, Andersson M, Kamby C. HER2-targeted therapy in breast cancer. Monoclonal antibodies and tyrosine kinase inhibitors. *Cancer Treatment Reviews*. 2009; 35(2): 121-136.

107. Colditz G, Bohlke K, Berkey C. Breast cancer risk accumulation starts early: prevention must also. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2014; 145(3): 567-579.
108. Howell A, Anderson A, Clarke R, Duffy S, Evans DG, Garcia-Closas M, et al. Risk determination and prevention of breast cancer. *Breast Cancer Research*. 2014; 16(5): 446.
109. Ramírez K, Acevedo F, Herrera ME, Ibáñez C, Sánchez C. Actividad física y cáncer de mama: un tratamiento dirigido. *Revista médica de Chile*. 2017; 145(1): 75-84.
110. Mørch L, Skovlund C, Hannaford P, Iversen L, Fielding S, Lidegaard Ø. Contemporary Hormonal Contraception and the Risk of Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2017; 377(23): 2228-2239.
111. Sauter ER. Breast Cancer Prevention: Current Approaches and Future Directions. *European Journal of Breast Health*. 2018; 14(2): 64-71.
112. Makki J. Diversity of Breast Carcinoma: Histological Subtypes and Clinical Relevance. *Clinical Medicine Insights Pathology*. 2015; 8: 23-31.
113. Colditz GA, Kaphingst KA, Hankinson SE, Rosner B. Family history and risk of breast cancer: nurses' health study. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2012; 133(3): 1097-1104.
114. Polyak K. Breast cancer: origins and evolution. *The Journal of Clinical Investigation*. 2007; 117(11): 3155-3163.
115. Allison KH. Molecular pathology of breast cancer: what a pathologist needs to know. *American Journal of Clinical Pathology*. 2012; 138(6): 770-780.
116. Mathelin C, Antoni D, Lodi M, Chenard M, Molière S. Carcinoma ductal in situ. *EMC - Ginecología-Obstetricia*. 2021; 57(1): 1-12.
117. Salimifard S, Masjedi A, Hojjat-Farsangi M, Ghalamfarsa G, Irandoust M, Azizi G, et al. Cancer associated fibroblasts as novel promising therapeutic targets in breast cancer. *Pathology - Research and Practice*. 2020; 216(5): 152915.
118. Li J, Guan X, Fan Z, Ching L-M, Li Y, Wang X, et al. Non-Invasive Biomarkers for Early Detection of Breast Cancer. *Cancers*. 2020; 12(10): 2767.
119. Gorringer KL, Fox SB. Ductal carcinoma *in situ* biology, biomarkers, and diagnosis. *Frontiers in Oncology*. 2017; 7: 248.

120. Groen EJ, Elshof LE, Visser LL, Rutgers EJT, Winter-Warnars HAO, Lips EH, et al. Finding the balance between over- and under-treatment of ductal carcinoma in situ (DCIS). *Breast*. 2017; 31: 274-283.
121. Sagara Y, Julia W, Golshan M, Toi M. Paradigm Shift toward Reducing Overtreatment of Ductal Carcinoma In Situ of Breast. *Frontiers in Oncology*. 2017; 7: 192.
122. Tan P, Ellis I, Allison K, Brogi E, Fox S, Lakhani S, et al. The 2019 World Health Organization classification of tumours of the breast. *Histopathology*. 2020; 77(2): 181-185.
123. Miyazaki Y, Shimizu J, Kubo Y, Tabata N, Aso T. Quantitative classification of invasive and noninvasive breast cancer using dynamic magnetic resonance imaging of the mammary gland. *Journal of Clinical Imaging Science*. 2022; 12: 45.
124. Gallego G, Velázquez J. Carcinoma in situ de la mama: actualización. *Medicina & Laboratorio*. 2020; 19(03-04): 127-160.
125. Koo M, von Wagner C, Abel G, McPhail S, Rubin G, Lyratzopoulos G. Typical and atypical presenting symptoms of breast cancer and their associations with diagnostic intervals: Evidence from a national audit of cancer diagnosis. *Cancer Epidemiology*. 2017; 48: 140-146.
126. Piamo A, Palma L, Arzuaga I, Ferrer D, Chávez D, García M, et al. Carcinoma medular de mama. Caracterización de una serie de casos, 2010-2019. *Revista de Senología y Patología Mamaria*. 2020; 33(1): 9-15.
127. Horvath E. Subtipos moleculares del cáncer mamario-lo que el radiólogo dedicado a imágenes mamarias debe saber. *Revista Chilena de Radiología*. 2021; 27(1): 17-26.
128. Eliyatkin N, Yalçın E, Zengel B, Aktaş S, Vardar E. Molecular Classification of Breast Carcinoma: From Traditional, Old-Fashioned Way to A New Age, and A New Way. *European Journal of Breast Health*. 2015; 11(2): 59-66.
129. Vela D, Salazar S, Salazar D. Frecuencia de subtipos moleculares de cáncer de mama, Hospital Metropolitano, 2016-2019, Quito- Ecuador. *Metro Ciencia*. 2020; 28(3): 32-38.

130. Yersal O, Barutca S. Biological subtypes of breast cancer: Prognostic and therapeutic implications. *World Journal of Clinical Oncology*. 2014; 5(3): 412-424.
131. Imigo F, Mansilla E, Delama I, Poblete M, Fonfach C. Clasificación molecular del cáncer de mama. *Cuadernos de Cirugía*. 2011; 25(1): 67-74.
132. Bustreo S, Osella-Abate S, Cassoni P, Donadio M, Airoidi M, Pedani F, et al. Optimal Ki67 cut-off for luminal breast cancer prognostic evaluation: a large case series study with a long-term follow-up. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2016; 157(2): 363-371.
133. Li W, Lee A, Gregersen P. Copy-number-variation and copy-number-alteration region detection by cumulative plots. *BMC Bioinformatics*. 2009; 10(1): 1-11.
134. Giulianelli S, Molinolo A, Lanari C. Targeting Progesterone Receptors in Breast Cancer. In: Litwack G, editor. *Vitamins & Hormones*. New York: Academic Press; 2013. p. 161-184.
135. Chlebowski RT, Anderson GL. Menopausal hormone therapy and breast cancer mortality: clinical implications. *Therapeutic Advances in Drug Safety*. 2015; 6(2): 45-56.
136. Vogel L. Hormone therapy study restokes debate over breast cancer risk. *Canadian Medical Association Journal*. *Canadian Medical Association Journal*; 2019; 191(39): E1088-E1089.
137. Vásquez-Moctezuma I, Fernández-Navarrete E, Márquez-Mendoza J, Luna-Palencia GR. Epigenetics of breast cancer. *Revista Mexicana de Mastología*. 2021; 10(2): 39-47.
138. Sánchez C, Valenzuela Y, Pérez-Sepúlveda A, Villarroel A, Medina L, Camus M, et al. Cáncer de mama avanzado receptor de estrógeno positivo: Manejo sistémico actual. *Revista Chilena de Cirugía*. 2018; 70(5): 464-473.
139. Sobhani N, Fan C, O. Flores-Villanueva P, Generali D, Li Y. The Fibroblast Growth Factor Receptors in Breast Cancer: from Oncogenesis to Better Treatments. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(6): 2011.
140. Santillán-Benítez J, Quiroz O, Mendieta-Zerón H, Gómez-Oliván L. Expresión génica y receptores hormonales en cáncer mamario. “El camino hacia la

- búsqueda de terapias preventivas”. *Revista de Medicina e Investigación*. 2013; 1(1): 17-24.
141. Yirgin İK, Arslan G, Öztürk E, Yirgin H, Taşdemir N, Gemici A, et al. Diffusion weighted MR imaging of breast and correlation of prognostic factors in breast cancer. *Balkan Medical Journal*. 2016; 33(3): 301-307.
 142. González JM, Morales MM, López Z, Díaz M. Factores pronósticos del cáncer de mama. *Revista Cubana de Cirugía*. 2011; 50(1): 130-138.
 143. Drăgănescu M, Carmocan C. Hormone therapy in breast cancer. *Chirurgia*. 2017; 112(4): 413-417.
 144. Parra C, García S, Insuasty J. Experiencias de vida en mujeres con cáncer de mama en quimioterapia. *Revista Colombiana de Psiquiatría*. 2011; 40(1): 65-84.
 145. Ayoub NM, Al-Shami KM, Yaghan RJ. Immunotherapy for HER2-positive breast cancer: recent advances and combination therapeutic approaches. *Breast Cancer: Targets and Therapy*. 2019; 11: 53-69.
 146. Hodi FS, Dranoff G. The biologic importance of tumor-infiltrating lymphocytes. *Journal of Cutaneous Pathology*. 2010; 37 Suppl 1(01): 48-53.
 147. Rinnerthaler G, Gampenrieder S, Greil R. HER2 Directed Antibody-Drug-Conjugates beyond T-DM1 in Breast Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20(5): 1115.
 148. Tamura K, Tsurutani J, Takahashi S, Iwata H, Krop IE, Redfern C, et al. Trastuzumab deruxtecan (DS-8201a) in patients with advanced HER2-positive breast cancer previously treated with trastuzumab emtansine: a dose-expansion, phase 1 study. *The Lancet Oncology*. 2019; 20(6): 816-826.
 149. Luen S, Salgado R, Fox S, Savas P, Eng-Wong J, Clark E, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes in advanced HER2-positive breast cancer treated with pertuzumab or placebo in addition to trastuzumab and docetaxel: a retrospective analysis of the CLEOPATRA study. *The Lancet Oncology*. 2017; 18(1): 52-62.
 150. Kim A, Lee SJ, Kim YK, Park WY, Park DY, Kim JY, et al. Programmed death-ligand 1 (PD-L1) expression in tumour cell and tumour infiltrating lymphocytes of HER2-positive breast cancer and its prognostic value. *Scientific Reports*. 2017; 7(1): 11671.

151. Loi S, Giobbie-Hurder A, Gombos A, Bachelot T, Hui R, Curigliano G, et al. Pembrolizumab plus trastuzumab in trastuzumab-resistant, advanced, HER2-positive breast cancer (PANACEA): a single-arm, multicentre, phase 1b–2 trial. *The Lancet Oncology*. 2019; 20(3): 371-382.
152. Schmid P, Adams S, Rugo HS, Schneeweiss A, Barrios CH, Iwata H, et al. Atezolizumab and Nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2018; 379(22): 2108-2121.
153. Litton JK, Rugo HS, Ettl J, Hurvitz SA, Gonçalves A, Lee K-H, et al. Talazoparib in patients with advanced breast cancer and a germline BRCA mutation. *New England Journal of Medicine*. 2018; 379(8): 753-763.
154. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R, Torre L, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2018; 68(6): 394-424.
155. Arrechea M, Vicente F, Córdoba A, Ibáñez B, Santamaría M, Guillén F. Subtipos moleculares del cáncer de mama: implicaciones pronósticas y características clínicas e inmunohistoquímicas. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*. 2011; 34(2): 219-233.
156. Medina GA. Características clínicas y pronósticas de los subtipos moleculares de cáncer de mama determinados por inmunohistoquímica. Arequipa, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2017; 34(3): 472-477.
157. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000; 406(6797): 747-752.
158. Bonilla-Sepúlveda OA, Matute-Turízo G, Severiche C. Clasificación en subtipos intrínsecos de los carcinomas de mama analizados en un centro de patología de Medellín en el año 2011. *CES Medicina*. 2015; 29(1): 36-45.
159. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Annals of Oncology*. 2013; 24(9): 2206-2223.

160. Jenkins EO, Deal AM, Anders CK, Prat A, Perou CM, Carey LA, et al. Age-Specific Changes in Intrinsic Breast Cancer Subtypes: A Focus on Older Women. *The Oncologist*. 2014; 19(10): 1076-1083.
161. Tsang JYS, Tse GM. Molecular Classification of Breast Cancer. *Advances in Anatomic Pathology*. 2020; 27(1): 27-35.
162. Zaha DC. Significance of immunohistochemistry in breast cancer. *World Journal of Clinical Oncology*. 2014; 5(3): 382-392.
163. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *Journal of the American College of Dentists*. 2014; 81(3): 14-18.
164. Morais-Rodrigues F, Silvério-Machado R, Kato R, Rodrigues D, Valdez-Baez J, Fonseca V, et al. Analysis of the microarray gene expression for breast cancer progression after the application modified logistic regression. *Gene*. 2020; 726: 144168.
165. Latha N, Rajan A, Nadhan R, Achyutuni S, Sengodan S, Hemalatha S, et al. Gene expression signatures: A tool for analysis of breast cancer prognosis and therapy. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2020; 151: 102964.
166. Kim SW, Roh J, Park CS. Immunohistochemistry for Pathologists: Protocols, Pitfalls, and Tips. *Journal of Pathology and Translational Medicine*. 2016; 50(6): 411-418.
167. Tan WC, Nerurkar SN, Cai HY, Ng HHM, Wu D, Wee YT, et al. Overview of multiplex immunohistochemistry/immunofluorescence techniques in the era of cancer immunotherapy. *Cancer Communications*. 2020; 40(4): 135-153.
168. Phung MT, Tin S, Elwood JM. Prognostic models for breast cancer: a systematic review. *BMC Cancer*. 2019; 19(1): 230.
169. Susini T, Biglia N, Bounous VE. Prognostic Factors Research in Breast Cancer Patients: New Paths. *Cancers*. 2022; 14(4): 971.
170. Schmidt M, Gehrman M, Hengstler J, Koelbl H. New prognostic and predictive factors in breast cancer. *Minerva Obstetrics and Gynecology*. 2010; 62(6): 599-611.

171. Lam SW, Jimenez CR, Boven E. Breast cancer classification by proteomic technologies: Current state of knowledge. *Cancer Treatment Reviews*. 2014; 40(1): 129-138.
172. Dai X, Xiang L, Li T, Bai Z. Cancer Hallmarks, Biomarkers and Breast Cancer Molecular Subtypes. *Journal of Cancer*. 2016; 7(10): 1281-1294.
173. Janeva S, Parris T, Nasic S, De Lara S, Larsson K, Audisio R, et al. Comparison of breast cancer surrogate subtyping using a closed-system RT-qPCR breast cancer assay and immunohistochemistry on 100 core needle biopsies with matching surgical specimens. *BMC Cancer*. 2021; 21(1): 439.
174. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart M, et al. Tailoring therapies--improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Annals of Oncology*. 2015; 26(8): 1533-1546.
175. Inwald E, Koller M, Klinkhammer-Schalke M, Zeman F, Hofstädter F, Gerstenhauer M, et al. 4-IHC classification of breast cancer subtypes in a large cohort of a clinical cancer registry: use in clinical routine for therapeutic decisions and its effect on survival. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2015; 153(3): 647-658.
176. Adani-Ifè A, Amégbor K, Doh K, Darré T. Breast cancer in togolese women: immunohistochemistry subtypes. *BMC Women's Health*. 2020; 20(1): 261.
177. Allison KH. Molecular Testing in Breast Cancer. In: Coleman WB, Tsongalis GJ, editors. *Diagnostic Molecular Pathology: A Guide to Applied Molecular Testing*. New York: Academic Press; 2017. p. 257-69.
178. Weigelt B, Geyer F, Reis-Filho J. Histological types of breast cancer: How special are they?. *Molecular Oncology*. 2010; 4(3): 192-208.
179. Spitale A, Mazzola P, Soldini D, Mazzucchelli L, Bordoni A. Breast cancer classification according to immunohistochemical markers: clinicopathologic features and short-term survival analysis in a population-based study from the South of Switzerland. *Annals of Oncology*. 2009; 20(4): 628-635.
180. Abubakar M, Sung H, Bcr D, Guida J, Tang TS, Pfeiffer RM, et al. Breast cancer risk factors, survival and recurrence, and tumor molecular subtype: analysis of

- 3012 women from an indigenous Asian population. *Breast Cancer Research*. 2018; 20(1): 114.
181. Al-thoubaity FK. Molecular classification of breast cancer: A retrospective cohort study. *Annals of Medicine and Surgery*. 2020; 49: 44-48.
 182. Sahin S, Erdem GU, Karatas F, Aytakin A, Sever AR, Ozisik Y, et al. The association between body mass index and immunohistochemical subtypes in breast cancer. *The Breast*. 2017; 32: 227-236.
 183. Sengal AT, Haj-Mukhtar NS, Elhaj AM, Bedri S, Kantelhardt EJ, Mohamedani AA. Immunohistochemistry defined subtypes of breast cancer in 678 Sudanese and Eritrean women; hospitals based case series. *BMC Cancer*. 2017; 17(1): 804.
 184. San TH, Fujisawa M, Fushimi S, Soe L, Min NW, Yoshimura T, et al. Molecular Subtypes of Breast Cancers from Myanmar Women: A Study of 91 Cases at Two Pathology Centers. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2017; 18(6): 1617-1621.
 185. Preat F, Simon P, Noel J-C. Differences in breast carcinoma immunohistochemical subtypes between immigrant Arab and European women. *Diagnostic Pathology*. 2014; 9(1): 26.
 186. Bennis S, Abbass F, Akasbi Y, Znati K, Joutei K, El Mesbahi O, et al. Prevalence of molecular subtypes and prognosis of invasive breast cancer in north-east of Morocco: retrospective study. *BMC Research Notes*. 2012; 5(1): 436.
 187. Reigosa A, Hardisson D, Sanz F, Caleiras E, Saldivia F, Fernández Á. Subclasificación de los tipos moleculares de cáncer de mama de acuerdo a la expresión de marcadores inmunohistoquímicos y evolución. *Investigación Clínica*. 2016; 57(2): 187-216.
 188. Bertolo C, Guerrero D, Vicente F, Cordoba A, Esteller M, Ropero S, et al. Differences and molecular immunohistochemical parameters in the subtypes of infiltrating ductal breast cancer. *American Journal of Clinical Pathology*. 2008; 130(3): 414-424.
 189. Simon SD, Bines J, Werutsky G, Nunes JS, Pacheco FC, Segalla JG, et al. Characteristics and prognosis of stage I-III breast cancer subtypes in Brazil: The AMAZONA retrospective cohort study. *Breast*. 2019; 44: 113-119.

190. Hugh J, Hanson J, Cheang MC, Nielsen T, Perou CM, Dumontet C, et al. Breast cancer subtypes and response to docetaxel in node-positive breast cancer: use of an immunohistochemical definition in the BCIRG 001 trial. *Journal of Clinical Oncology*. 2009; 27(8): 1168-1176.
191. Vallejos CS, Gómez HL, Cruz WR, Pinto JA, Dyer RR, Velarde R, et al. Breast cancer classification according to immunohistochemistry markers: subtypes and association with clinicopathologic variables in a peruvian hospital database. *Clinical Breast Cancer*. 2010; 10(4): 294-300.
192. Lee KH, Im SA, Oh DY, Lee SH, Chie EK, Han W, et al. Prognostic significance of bcl-2 expression in stage III breast cancer patients who had received doxorubicin and cyclophosphamide followed by paclitaxel as adjuvant chemotherapy. *BMC Cancer*. 2007; 7: 63.
193. Joensuu K, Leidenius M, Kero M, Andersson L, Horwitz K, Heikkilä P. ER, PR, HER2, Ki-67 and CK5 in Early and Late Relapsing Breast Cancer-Reduced CK5 Expression in Metastases. *Breast Cancer : Basic and Clinical Research*. 2013; 7: 23-34.
194. Allison KH, Hammond ME, Dowsett M, Mckernin SE, Carey LA, Fitzgibbons PL, et al. Estrogen and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Update. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2020; 144(5): 545-563.
195. Park S, Koo JS, Kim MS, Park HS, Lee JS, Lee JS, et al. Characteristics and outcomes according to molecular subtypes of breast cancer as classified by a panel of four biomarkers using immunohistochemistry. *The Breast*. 2012; 21(1): 50-57.
196. Zhao X, Liu J, Ge S, Chen C, Li S, Wu X, et al. Saikosaponin A Inhibits Breast Cancer by Regulating Th1/Th2 Balance. *Frontiers in Pharmacology*. 2019; 10: 624.
197. Burstein H, Curigliano G, Loibl S, Dubsy P, Gnant M, Poortmans P, et al. Estimating the benefits of therapy for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Consensus Guidelines for the primary therapy of early breast cancer 2019. *Annals of Oncology*. 2019; 30(10): 1541-1557.

198. Thangarajah F, Enninga I, Malter W, Hamacher S, Markiefka B, Richters L, et al. A Retrospective Analysis of Ki-67 Index and its Prognostic Significance in Over 800 Primary Breast Cancer Cases. *Anticancer Research*. 2017; 37(4): 1957-1964.
199. Abdalla Al-Zawi AS, Elamass M, Kapturek A, Idaewor P. Ki-67 proliferative index correlation to the immunohistochemistry profile in early female breast cancer: a review of 515 cases. *Medical Research Journal*. 2021; 6(2): 108-113.
200. Marwah N, Batra A, Marwah S, Gupta V, Shakya S, Sen R. Correlation of proliferative index with various clinicopathologic prognostic parameters in primary breast carcinoma: A study from North India. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 2018; 14(3): 537-542.
201. Kondov B, Milenkovic Z, Kondov G, Petrushevska G, Basheska N, Bogdanovska-Todorovska M, et al. Presentation of the molecular subtypes of breast cancer detected by immunohistochemistry in surgically treated patients. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2018; 6(6): 961-967.
202. Garrett JT, Arteaga CL. Resistance to HER2-directed antibodies and tyrosine kinase inhibitors. *Cancer Biology & Therapy*. 2011; 11(9): 793-800.
203. Cejalvo J. *Nuevas vías moleculares implicadas en los mecanismos de resistencia primaria y adquirida en cáncer de mama HER2 positivo* [Doctoral dissertation]. Valencia: Universitat de València; 2018.
204. Martín M. *El fenotipo "basal-her2" en el cáncer de mama: caracterización clínico-molecular e implicaciones terapéuticas* [Doctoral dissertation]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2016.
205. Meléndez RA, Asencio Aguedo AY. Factores clinicopatológicos asociados a la amplificación del genHER2/neu en pacientes con cáncer de mama HER2 2+. *Anales de la Facultad de Medicina*. 2017; 78(4): 381-385.
206. Sua LF, Bravo JC, Franco W. Estudios de patología molecular utilizados para evaluar la amplificación del oncogén her2 en cáncer de mama. *Opinión clínica: Medicina*. 2014; 36(4): 320-328.
207. González LA, Aristizábal BH. Evaluación de tres métodos moleculares para el rastreo e identificación de HER2/neu en pacientes con cáncer de mama. *Medicina Universidad Pontificia Bolivariana (UPB)*. 2010; 29(1): 17-40.

208. Paredes NQ. *Supervivencia global y tasa de respuesta en cáncer de mama Her2 positivo en Instituto Nacional del Cáncer Rosa Emilia Sánchez Pérez Tavares en periodo agosto 2016 - agosto 2019* [Doctoral dissertation]. Distrito Nacional: Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña; 2022.
209. Martínez E. *Evaluación del grado de conversión de los receptores HER2, RE y RPg entre el cáncer de mama primario y sus respectivas metástasis* [Doctoral dissertation]. Valencia: Universitat de València; 2017.
210. Godoy-Ortiz A, Sanchez-Muñoz A, Chica MR, Álvarez M, Ribelles N, Rueda A, et al. Deciphering HER2 Breast Cancer Disease: Biological and Clinical Implications. *Frontiers in Oncology*. 2019; 9: 1124.
211. Gulbahce HE, Bernard PS, Weltzien EK, Factor RE, Kushi LH, Caan BJ, et al. Differences in molecular features of triple-negative breast cancers based on the age at diagnosis. *Cancer*. 2018; 124(24): 4676-4684.
212. Rakha E, Toss M, Quinn C. Specific cell differentiation in breast cancer: a basis for histological classification. *Journal of Clinical Pathology*. 2022; 75(2): 76-84.
213. Provenzano E, Ulaner GA, Chin SF. Molecular Classification of Breast Cancer. *PET Clinics*. 2018; 13(3): 325-338.
214. Dai X, Li T, Bai Z, Yang Y, Liu X, Zhan J, et al. Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. *American Journal of Cancer Research*. 2015; 5(10): 2929-2943.
215. Russnes HG, Lingjærde OC, Børresen-Dale AL, Caldas C. Breast Cancer Molecular Stratification: From Intrinsic Subtypes to Integrative Clusters. *The American Journal of Pathology*. 2017; 187(10): 2152-2162.
216. Jiang G, Zhang S, Yazdanparast A, Li M, Pawar A, Liu Y, et al. Comprehensive comparison of molecular portraits between cell lines and tumors in breast cancer. *BMC Genomics*. 2016; 17(7): 525.
217. Hirko K, Rocque G, Reasor E, Taye A, Daly A, Cutress R, et al. The impact of race and ethnicity in breast cancer-disparities and implications for precision oncology. *BMC Medicine*. 2022; 20(1): 72.
218. Peng Y, Tang P. *Practical Breast Pathology: Frequently Asked Questions*. Cham: Springer International Publishing; 2019.

219. Gao JJ, Swain SM. Luminal A Breast Cancer and Molecular Assays: A Review. *The Oncologist*. 2018; 23(5): 556-565.
220. Russo J. Defining Breast Cancer. In: Russo J, editor. *The Future of Prevention and Treatment of Breast Cancer*. Cham: Springer International Publishing; 2021. p. 1-31.
221. da Silva JL, Cardoso NC, Izetti P, de Mesquita GG, de Melo AC. Triple negative breast cancer: A thorough review of biomarkers. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2020; 145: 102855.
222. Alluri P, Newman L. Basal-like and triple-negative breast cancers: searching for positives among many negatives. *Surgical Oncology Clinics of North America*. 2014; 23(3): 567-577.
223. Li Y, Tang X, Bai Z, Dai X. Exploring the intrinsic differences among breast tumor subtypes defined using immunohistochemistry markers based on the decision tree. *Scientific Reports*. 2016; 6(1): 35773.
224. Dawson SJ, Rueda OM, Aparicio S, Caldas C. A new genome-driven integrated classification of breast cancer and its implications. *The EMBO Journal*. 2013; 32(5): 617-628.
225. Mouttet D, Laé M, Caly M, Gentien D, Carpentier S, Peyro-Saint-Paul H, et al. Estrogen-Receptor, Progesterone-Receptor and HER2 Status Determination in Invasive Breast Cancer. Concordance between Immuno-Histochemistry and MapQuant™ Microarray Based Assay. *PLOS ONE*. 2016; 11(2): e0146474.
226. Hicks D, Dell'Orto P, Falzon M, Hoff K, Levy Y, McMahon L, et al. Immunohistochemical Performance of Estrogen and Progesterone Receptor Antibodies on the Dako Omnis Staining Platform: Evaluation in Multicenter Studies. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 2017; 25(5): 313-319.
227. Ahn S, Woo J, Lee K, Park S. HER2 status in breast cancer: changes in guidelines and complicating factors for interpretation. *Journal of Pathology and Translational Medicine*. 2020; 54(1): 34-44.
228. Boyaci C, Sun W, Robertson S, Acs B, Hartman J. Independent Clinical Validation of the Automated Ki67 Scoring Guideline from the International Ki67 in Breast Cancer Working Group. *Biomolecules*. 2021; 11(11): 1612.

229. Hacking S, Wang Y. Practical Issues of Ki-67 Evaluation in Breast Cancer Clinical Practice. *Journal of Clinical and Translational Pathology*. 2022; 2(2): 53-56.
230. Nielsen T, Leung S, Rimm D, Dodson A, Acs B, Badve S, et al. Assessment of Ki67 in Breast Cancer: Updated Recommendations From the International Ki67 in Breast Cancer Working Group. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 2021; 113(7): 808-819.
231. Travaglino A, Raffone A, Saccone G, Insabato L, Mollo A, De Placido G, et al. Immunohistochemical predictive markers of response to conservative treatment of endometrial hyperplasia and early endometrial cancer: A systematic review. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2019; 98(9): 1086-1099.
232. del Gobbo A, Ferrero S. Immunohistochemical Markers as Predictors of Histopathologic Response and Prognosis in Rectal Cancer Treated with Preoperative Adjuvant Therapy: State of the Art. *Gastroenterology Research and Practice*. 2017; 2017: 2808235.
233. Bai R, Lv Z, Xu D, Cui J. Predictive biomarkers for cancer immunotherapy with immune checkpoint inhibitors. *Biomarker Research*. 2020; 8(1): 34.
234. Yoon S, Won H, Kang K, Qiu K, Park W, Ko Y. Hormone Receptor-Status Prediction in Breast Cancer Using Gene Expression Profiles and Their Macroscopic Landscape. *Cancers*. 2020; 12(5): 1165.
235. Roshed MM, Kamal S, Hossain SM, Akhtar S. Evaluation of Breast Cancer Subtypes Based on ER/PR and Her2 Expression: A Clinicopathologic Study of Hormone Receptor Status (ER/PR/HER2-neu) in Breast Cancer. *Faridpur Medical College Journal*. 2020; 14(1): 8-12.
236. Gnant M, Harbeck N, Thomssen C. St. Gallen 2011: summary of the consensus discussion. *Breast Care*. 2011; 6(2): 136-141.
237. Malik SS, Masood N. *Breast Cancer: From Bench to Personalized Medicine*. Singapore: Springer Nature Singapore; 2022.
238. Ulloa P, Ronquillo S, Sánchez K. Sobrevida en pacientes con cáncer de mama según su inmunohistoquímica experiencia del Instituto Oncológico Nacional - Sociedad de Lucha Contra el Cáncer, Guayaquil Ecuador. *Revista Medica Sinergia*. 2020; 5(7): e542.

239. Onitilo AA, Engel JM, Greenlee RT, Mukesh BN. Breast Cancer Subtypes Based on ER/PR and Her2 Expression: Comparison of Clinicopathologic Features and Survival. *Clinical Medicine & Research*. 2009; 7(1-2): 4-13.

8. ANEXOS

Anexo 1. Aval del Comité de Investigación y Ética



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
Universidad Acreditada Resolución 002-CONEA-2010-129-DC
Resolución No 001-073 CEAACES-2013-13

COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE,
CEISH-UTN

CARTA DE APROBACIÓN

El Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Técnica del Norte, CEISH-UTN; luego de haber revisado la solicitud presentada por el Investigador Principal: Dra. Lourdes Beatriz González-Longoria Boada portador de la CC # 0958537995, del proyecto de investigación titulado: "Relación del perfil genómico en aspectos clínicos e histológicos del Cáncer de Mama en la Zona 8 de Ecuador (2014-2017); y comprobando la existencia de los documentos habilitantes del estudio de investigación.

Nº	TIPO DE DOCUMENTO	RECEPCION DE DOCUMENTOS	
		SI	NO
1	Formulario de solicitud para aprobación de un estudio de investigación	X	
2	Acuerdo de confidencialidad por acceso a información temas relacionados a salud	X	
3	Curriculum vitae del investigador principal	X	
4	Herramientas	X	

Ha decidido aprobar el estudio citado y compromete a sus investigadores dar cumplimiento a las obligaciones éticas en relación con las intervenciones que se realicen con seres humanos. Así como emitir informes trimestrales y de cierre de dicho estudio.

Ibarra, 5 de febrero del 2019

Dra. Salomé Gordillo A.
PRESIDENTA CEISH-UTN

Dr. Juan Francisco Vaca O.
MIEMBRO CEISH-UTN

Mes. Rocio Castillo A.
MIEMBRO CEISH-UTN

Dr. Jorge Guevara Escobar
SECRETARIO JURÍDICO CEISH-UTN

DECANATO

SECRETARIO JURÍDICO

Anexo 2. Acuerdo de confidencialidad



ACUERDO DE CONFIDENCIALIDAD POR ACCESO A INFORMACIÓN EN TEMAS RELACIONADOS A SALUD

El (la) Señor (a) Lourdes Beatriz González-Longoria Boada, con cargo Médico Especialista de Oncología, que en adelante se denominará el INTERESADO, de manera libre y voluntaria, y en el uso de sus capacidades, suscribe el presente Acuerdo de Confidencialidad al tenor de las siguientes cláusulas:



Cláusula Primera.- ANTECEDENTES:

El artículo 18 numeral 2 de la Constitución de la República del Ecuador, ordena que:

“Todas las personas, en forma individual o colectiva, tienen derecho a: 2. Acceder libremente a la información generada en entidades públicas, o en las privadas que manejen fondos del Estado o realicen funciones públicas. No existirá reserva de información excepto en los casos expresamente establecidos en la ley. En caso de violación a los derechos humanos, ninguna entidad pública negará la información”.

La Norma Suprema en su artículo 362 prescribe:

“ (...) Los servicios de salud serán seguros, de calidad y calidez, y garantizarán el consentimiento informado, el acceso a la información y la confidencialidad de la información de los pacientes (...)”

La Ley Orgánica de Salud, determina:

Art. 6.- Es responsabilidad del Ministerio de Salud Pública (...)

5. Regular y vigilar la aplicación de las normas técnicas para la detección, prevención, atención integral y rehabilitación, de enfermedades transmisibles, no transmisibles, crónico-degenerativas, discapacidades y problemas de salud pública declarados prioritarios, y determinar las enfermedades transmisibles de notificación obligatoria, garantizando la confidencialidad de la información

El artículo 5 de la Ley Orgánica de Transparencia y Acceso a la Información Pública, prescribe: *“Se considera información pública, todo documento en cualquier formato, que se encuentre en poder de las instituciones públicas y de las personas jurídicas a las que se refiere esta Ley, contenidos, creados u obtenidos por ellas, que se encuentren bajo su responsabilidad o se hayan producido con recursos del Estado.”*

El artículo 6 de la Ley Orgánica de Transparencia y Acceso a la Información Pública, determina: *“Se considera información confidencial aquella información pública personal, que no está sujeta al principio de publicidad y comprende aquella derivada de sus derechos personalísimos y fundamentales, especialmente aquellos señalados en los artículos 23 y 24 de la Constitución Política de la República.*

*El uso ilegal que se haga de la información personal o su divulgación, dará lugar a las acciones legales pertinentes (...).”**

El artículo 179 del Código Integral Penal tipifica que:

"La persona que teniendo conocimiento por razón de su estado u oficio, empleo, profesión o arte, de un secreto cuya divulgación pueda causar daño a otra persona y lo revele, será sancionada con pena privativa de libertad de seis meses a un año".



Cláusula Segunda.- OBJETO:

En virtud de las disposiciones legales invocadas en la cláusula anterior, el INTERESADO se comprometo a guardar sigilo y reserva sobre la información y documentación que se maneja en el Ministerio de Salud Pública y que pueda poner en riesgos la seguridad de la información.

Cláusula Tercera.- OBLIGACIONES:

El INTERESADO ha sido informado y acepta que en atención a la naturaleza de la información y a los riesgos que el mal uso y/o divulgación de la misma implican para el Ministerio de Salud Pública, por tanto se obliga a mantener el sigilo de toda la información que por razones de sus actividades tendrá acceso. Se obliga a abstenerse de usar, disponer, divulgar y/o publicar por cualquier medio, verbal o escrito, y en general, aprovecharse de ella en cualquier otra forma, o utilizarla para efectos ajenos a lo requerido por el INTERESADO.

Cláusula Cuarta.- SANCIONES:

Como interesado en la información, he sido informado y quedo sometido a las Leyes y Reglamentos pertinentes sobre la materia, principalmente, quedo advertido de las sanciones penales que para estos casos establece la legislación ecuatoriana. En especial conozco que el incumplimiento de lo previsto en este "Acuerdo de Confidencialidad (...)" acarreará las siguientes sanciones:

Para los INTERESADOS (servidores públicos) podrá ser sancionado de conformidad con lo determinado en la Ley Orgánica del Servicio Público, en su Capítulo IV Del Régimen Disciplinario.

Para los INTERESADOS (ciudadano no servidor público, podrá ser sancionado de acuerdo a las disposiciones establecidas en el Código Integral Penal ecuatoriano.

Cláusula Quinta.- DECLARACIÓN:

El interesado declara conocer la información que se maneja en esta Cartera de Estado y utilizará en virtud de sus competencias la mencionada información únicamente para los fines para los cuales se le ha permitido acceso a la misma, debiendo mantener dichos datos de manera reservada, en virtud de la protección de que gozan de conformidad con la legislación vigente.

El interesado declara, además, conocer la normativa que regula la confidencialidad de la documentación, en especial las previsiones de la Constitución de la República, Ley Orgánica de Transparencia y Acceso a la Información Pública, Ley Orgánica del Servicio Público y el Código Orgánico Integral Penal.

Cláusula Sexta.- VIGENCIA:

Los compromisos establecidos en el presente Convenio de Confidencialidad se mantendrán vigentes desde la suscripción de este documento, sin límite, en razón de la sensibilidad de la información.

Cláusula Séptima.- ACEPTACIÓN:

El interesado Lourdes Beatriz González-Longoria Boada acepta el contenido de todas y cada una de las cláusulas del presente convenio y en consecuencia se compromete a cumplirlas en toda su extensión, en fe de lo cual y para los fines legales correspondientes, lo firma en tres ejemplares del mismo tenor y efecto, en la ciudad de Guayaquil, el 04 de marzo 2019.



Firma

C.I.0958537995

DE CONFORMIDAD CON EL NUMERAL 5to. DEL ART. 18 DE LA LEY NOTARIAL VIGENTE DOY FE: QUE LA FOTOCOPIA PRECEDENTE COMPUESTA DE 02 FOLIOS ES IGUAL AL DOCUMENTO ORIGINAL QUE ME FUE EXHIBIDO GUAYAQUIL, 12-01-2023



Abg. Mariana Salcedo Payton, Msc.
NOTARIA 67 DEL CANTÓN GUAYAQUIL



Factura: 001-001-000072667



20230901067C00131

FIEL COPIA DE DOCUMENTOS EXHIBIDOS EN ORIGINAL N° 20230901067C00131

RAZÓN: De conformidad al Art. 18 numeral 5 de la Ley Notarial, doy fe que la(s) fotocopia(s) que antecede(n) es (son) igual(es) al(los) documento(s) original(es) que corresponde(n) a ACUERDO DE CONFIDENCIALIDAD POR ACCESO A INFORMACION EN TEMAS RELACIONADOS A SALUD y que me fue exhibido en 2 foja(s) útil(es). Una vez practicada(s) la certificación(es) se devuelve el(los) documento(s) en 2 foja(s), conservando una copia de ellas en el Libro de Certificaciones. La veracidad de su contenido y el uso adecuado del (los) documento(s) certificado(s) es de responsabilidad exclusiva de la(s) persona(s) que lo(s) utiliza(n).

GUAYAQUIL, a 12 DE ENERO DEL 2023, (12:35).

NOTARIO(A) MARIANA ISABEL SALCEDO FAYTONG
NOTARÍA SEXAGESIMA SEPTIMA DEL CANTÓN GUAYAQUIL



Anexo 3. Aprobación para el acceso de información

MINISTERIO DE SALUD



Unidad de
DOCENCIA E
INVESTIGACIÓN

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES GUAYAQUIL DR. ABEL GILBERT PONTÓN
UNIDAD DE DOCENCIA E INVESTIGACIÓN

Memorando N° HAGP-2019-UDI-324-M
Guayaquil, marzo 06 del 2019.

Ingeniera
Cinthya Patiño Rojas
COORDINADORA DE ADMISIONES
Presente

A través de la presente solicito a usted, muy comedidamente se sirva brindar las facilidades a Dra. **LOURDES BEATRIZ GONZALEZ-LONGORIA BOADA**, quien se encuentran realizando su tema de Tesis “**REDACCIÓN DEL PERFIL GENÓMICO CON ASPECTOS CLINICOS E HISTOLÓGICOS DEL CÁNCER DE MAMA EN LA ZONA 8 DE ECUADOR (2014-2017)**” para la cual deberá recabar información en el Hospital de Especialidades Guayaquil Dr. Abel Gilbert Pontón, durante el periodo desde abril a mayo del 2019.

Agradeciéndole por la atención brindada.

Dr. Juan C. Moreira Holguin
NEUROCIRUJANO
CIRUJANO DE EPILEPSIA
SENESCYT 7160R-1528185
SENESCYT 104189732

Atentamente,

Dr. Juan Carlos Moreira Holguin
Coordinador de Docencia e Investigación
Hospital de Especialidades Guayaquil Dr. Abel Gilbert Pontón



Correo :lourde.gonzalez.longoria@hospitalguayaquil.gob.ec

Calle 29va y Galápagos.
Tel: 593 (04) 2597400, ext.: 3437, 3450, 4162

Anexo 4. Estudios publicados

Descargado el: 5-05-2022

ISSN 1727-897X

ARTÍCULO ORIGINAL

Subtipos inmunohistoquímicos y su relación con los aspectos clínico-patológicos e histológicos del cáncer de mama Immunohistochemical subtypes and their relationship with the clinicopathological and histological aspects of breast cancer

Lourdes González-Longoria Boada¹  Secundino González Pardo²  Francisco López Muñoz¹ 

¹ Facultad de Salud Pública. Universidad Camilo José Cela, Spain

² Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Técnica del Norte, Ecuador

Cómo citar este artículo:

González-Longoria-Boada L, González-Pardo S, López-Muñoz F. Subtipos inmunohistoquímicos y su relación con los aspectos clínico-patológicos e histológicos del cáncer de mama. **Medisur** [revista en Internet]. 2022 [citado 2022 May 5]; 20(3):[aprox. 478 p.]. Disponible en: <http://www.medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/5255>

Resumen

Fundamento: el pronóstico y la terapéutica del cáncer de mama están estrechamente relacionados con las características histopatológicas del paciente. Estas permiten establecer grupos pronósticos, como apoyo en la decisión de tratamientos individuales efectivos. Sin embargo, la información existente sobre la relación entre estos aspectos y los subtipos inmunohistoquímicos de cáncer de mama es limitada en países latinoamericanos.

Objetivo: determinar la relación entre las características clínico-patológicas e histológicas y los subtipos inmunohistoquímicos de cáncer de mama en pacientes ecuatorianas.

Métodos: estudio observacional de corte transversal en pacientes ecuatorianas atendidas en el Hospital Abel Gilbert Pontón entre enero de 2014 y diciembre de 2017. Se incluyeron 199 pacientes con diagnóstico histopatológico de cáncer de mama. Se analizaron variables clínico-patológicas: edad, tamaño del tumor y estado de los ganglios linfáticos; histológicas: tipo y grado histológico.

Resultados: la edad media de los pacientes fue de $56,77 \pm 11,96$ años. Se observaron metástasis ganglionares en la mayoría de los casos (63,3%). El tamaño medio del tumor fue de $3,88 \pm 1,61$ cm. Más de la mitad de los casos (56,8%) presentaron un grado histológico moderadamente diferenciado. El subtipo molecular predominante fue la neoplasia luminal A (53,8%). El análisis demostró una asociación significativa ($p < 0,0001$) entre subtipos inmunohistoquímicos y las características clínico-patológicas e histológicas del cáncer de mama.

Conclusiones: la neoplasia mamaria en las pacientes ecuatorianas se diagnostica en estadios avanzados. El estudio enfatiza en la necesidad de introducir las pruebas de receptores inmunohistoquímicos en la práctica clínica para ayudar y determinar la biología del cáncer de mama, mejorar el efecto sobre la terapia y el pronóstico del paciente.

Palabras clave: cáncer de mama, biomarcadores, inmunohistoquímica, pronóstico

Abstract

Background: The prognosis and therapy of breast cancer (BC) is closely related to the histopathological characteristics of the patient. These allow to establish prognostic groups, as support in the decision of effective individual treatments. However, the existing information is limited on the relationship between these aspects and the immunohistochemical subtypes (IHC) of breast cancer in Latin American countries.

Objective: To determine the relationship between the clinical-pathological and histological characteristics with the IHC subtypes of BC in Ecuadorian patients.

Methods: An observational of the cross-sectional study was carried out in Ecuadorian patients treated at the Abel Gilbert Pontón Hospital between January 2014 and December 2017. 199 patients with a histopathological diagnosis of BC were included. Clinicopathological variables were analyzed: age, tumor size and lymph node status; histological: type and histological grade.

Results: The mean age of the patients was $56,77 \pm 11,96$ years. Lymph node metastases were observed in most cases (63,3%). The mean tumor size was $3,88 \pm 1,61$ cm. More than half of the cases (56,8%) presented a moderately differentiated histological grade. The predominant molecular subtype was Luminal A neoplasia (53,8%). The analysis showed a significant association ($p < 0, 0001$) between IHC subtypes and the clinicopathological and histological characteristics of BC.

Conclusions: Breast neoplasia in Ecuadorian patients is diagnosed in advanced stages. The study emphasizes the need to introduce IHC receptor tests into clinical practice to help determine the biology of breast cancer, improve the effect on therapy and the patient's prognosis.

Aprobado: 2022-03-22 10:59:43

Correspondencia: Lourdes González-Longoria Boada. Facultad de Salud Pública. Universidad Camilo José Cela. Madrid. España. longoria@uees.edu.ec

REVISTA MÉDICA DE CHILE

CERTIFICADO

Se certifica que los doctores Lourdes Beatriz González-Longoria Boada, Secundino Gonzáles Pardo, Francisco López Muñoz, son autores del manuscrito "**Clasificación inmunohistoquímica de los subtipos de cáncer de mama y su beneficio para la Salud Pública.**", aceptado para publicación en Revista Médica de Chile 2023.

Se emite el certificado a solicitud de los interesados y para los fines que estimen convenientes.



Dr. Fernando Florenzano
Editor Jefe
Revista Médica de Chile

Noviembre 25 de 2022