
Expresión de cadherinas E y P en los tipos moleculares de cáncer de mama.

Ángel Fernández¹, Aldo Reigosa¹, Eduardo Caleiras², Felipe Saldívar³,
David Hardisson⁴ y Francisco Sanz⁵.

¹Centro de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo. Valencia, Venezuela.

²Unidad de Diagnóstico Anatomopatológico, Hospital Metropolitano del Norte. Valencia, Venezuela.

³Instituto de Oncología "Dr. Miguel Pérez Carreño". Valencia, Venezuela.

⁴Departamento de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, España.

⁵Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid, España.

Palabras clave: cadherina E, cadherina P, clase molecular, transición epitelial-mesenquimal, cáncer de mama.

Resumen. La transición epitelial-mesenquimal es un proceso mediante el cual las células tumorales pierden sus marcadores epiteliales y facilita la migración a órganos distantes. En este proceso intervienen diversas proteínas de adhesión celular, tales como la cadherina E y la cadherina P. El presente estudio se realizó en 354 pacientes diagnosticadas de carcinoma ductal infiltrante de mama en seguimiento, en el Instituto de Oncología "Dr. Miguel Pérez Carreño" de Valencia, Venezuela. Se analizó la expresión de las dos moléculas por matrices de tejidos y se compararon los resultados obtenidos con las clases moleculares definidas por inmunohistoquímica, de acuerdo a la expresión de receptores de estrógeno (RE), receptores de progesterona (RP) y receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2) y con la supervivencia global (SG). Con base a los resultados de RE, RP y HER2 se establecieron las clases moleculares, obteniendo los siguientes porcentajes: Luminal A 42,4%, Luminal B 20,3%, HER2 9% y triple negativo (TN) 28,2%. La expresión de cadherina E se observó conservada en la mayoría de los tumores de esta serie, 92,5% de los casos. Los tumores de fenotipo TN presentaron un porcentaje elevado (41,7%) con expresión ausente o reducida. La cadherina P se expresó en el 40,5% de los casos, y aunque expresada en todas las clases, la proporción fue significativamente mayor en los casos TN. No se apreció valor pronóstico significativo al analizar la SG a 5 años de las pacientes con tumores con au-

sencia o expresión reducida de cadherina E. La expresión de cadherina P presentó relación negativa con la SG.

Cadherins E and P expression in the molecular types of breast cancer.

Invest Clin 2015; 56(2): 155 - 168

Keywords: cadherin E, cadherin P, molecular class, epithelial-mesenchymal transition, breast cancer.

Abstract. The epithelial-mesenchymal transition is a process by which tumor cells lose their epithelial markers and migrate to distant organs. This process involves several cell adhesion proteins such as E-cadherin and P-cadherin. The present study was performed in 354 patients diagnosed with breast infiltrating ductal carcinoma in the Oncology Institute “Dr. Miguel Pérez Carreño”, Valencia, Venezuela. The expression of 22 molecules was analyzed by tissue micro-arrays and the results were compared with the molecular classes established by immunohistochemistry, according to the expression of estrogen receptor (ER), progesterone (PR) and human epidermal growth factor receptor type 2 (HER2), and with the overall survival (OS). Based on the results of ER, PR and HER2 molecular classes according to the following percentages were established: Luminal A 42.4%, Luminal B 20.3%, 9% HER2 and 28.2% triple negative (TN). E-cadherin expression was observed conserved in most of the tumors of this series, 92.5% of cases. TN phenotype tumors showed a high percentage (41.7%) with absent or reduced expression. The P-cadherin was expressed in 40.5% of cases, although expressed in all classes; the proportion was significantly higher in cases TN. No significant prognostic value was observed when analyzing the overall five-year survival of patients with tumors with absent or reduced expression of E-cadherin. The P-cadherin expression had a negative relationship with the OS.

Recibido: 21-07-2014 Aceptado: 12-02-2015

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama representa un problema de salud pública en muchos países desarrollados y en vías de desarrollo. Considerando los dos sexos, es el segundo en frecuencia en el mundo después del cáncer de pulmón. En Venezuela, constituye la primera causa de muerte por cáncer en la mujer, ocupando el segundo lugar el cáncer de cuello uterino (1, 2).

Los carcinomas de la mama se han clasificado recientemente desde el punto de vista molecular en cuatro grupos mayores, que presentan un pronóstico y tratamiento muy diferentes. Por tal motivo, el cáncer de mama es considerada una enfermedad heterogénea que presenta una variabilidad sustancial en la evolución de la enfermedad dentro de cada categoría. Generalmente se acepta que los cursos clínicos variados de pacientes con tumores histológicamente

parecidos, son el resultado de diferencias moleculares (3).

Actualmente, desde el punto de vista inmunohistoquímico, se reconocen las clases moleculares Luminal A, Luminal B, HER2 y triple negativo (TN), subdividiéndose esta última clase a su vez en tipo TN basal (TNB) y TN no basal (TNnB), de acuerdo a la expresión de marcadores característicos de células basales tales como la citoqueratina 5/6, p63, el receptor del factor de crecimiento epidérmico 1 (EGFR) y otros (4-9).

En los últimos años se ha avanzado mucho en la comprensión del origen del carcinoma de mama. La teoría de las células madre cancerosas con potenciales evolutivos diferentes y un significativo número de diferentes alteraciones genéticas posibles, el papel de las células mioepiteliales y los mecanismos de la transformación epitelio-mesénquima, han aportado información muy valiosa en este sentido y han ayudado a entender mejor el carácter heterogéneo de la enfermedad (10-14).

La transición epitelial-mesénquima (TEM) es un proceso mediante el cual las células tumorales pierden sus marcadores epiteliales y se facilita así la migración a órganos distantes. En este proceso intervienen diversas proteínas de adhesión celular, tales como la cadherina E y la cadherina P (15, 16).

Una característica básica de las células cancerosas es que tienden a perder la adhesión entre ellas. La adhesión célula-célula es mediada por una variedad de proteínas de membrana, tales como las cadherinas (E, N, P, R, VE), claudinas, ocludinas, nectinas y las cadherinas desmosomales. Las cadherinas son necesarias para iniciar los contactos célula-célula; otros complejos de proteínas de adhesión subsecuentemente se ensamblan para mantener el continuo estructural del epitelio. La cadherina E es una glucoproteína transmembrana sintetizada por el gen *CDH1* localizado en el cro-

mosoma 16q22.1, cuya porción citoplasmática se ancla al citoesqueleto de actina de las células y está expresada fundamentalmente en la adhesión de células epiteliales (15, 17).

La cadherina E ha generado un interés especial debido a que sus funciones están frecuentemente alteradas en las células cancerosas metastásicas. La cadherina E está ligada al citoesqueleto a través de su asociación con varias cateninas citoplasmáticas (p120-catenina, β -catenina y α -catenina). La disminución de la expresión de cadherina E durante la progresión del cáncer se correlaciona con agresividad del tumor y peor pronóstico. Se ha hipotetizado que actúa como un supresor de invasión y metástasis y que la perturbación de su función ocurre tarde en la progresión tumoral. También tiene una función esencial en procesos fisiológicos normales, tales como el desarrollo, polaridad celular y morfología tisular, así como en estados patológicos como la TEM. La pérdida de la expresión de cadherina E está relacionada con un mayor tamaño tumoral, mayor grado tumoral y mayor frecuencia de metástasis en cáncer de mama (16, 17).

Por su parte, la cadherina P es una glucoproteína codificada por el gen *CDH3*, localizado también en el cromosoma 16q22.1. La cadherina P está compuesta por tres dominios distintivos (extracelular, transmembrana y citoplasmático). El dominio amino terminal es esencial para la creación de dímeros laterales que actúan juntos en una estructura parecida a un cierre entre células vecinas. La función y la fuerza de la adhesión mediada por cadherina P probablemente dependen de su asociación dinámica con las cateninas citoplasmáticas. Estas moléculas sirven para ligar la cola citoplasmática de la cadherina al citoesqueleto de actina y facilita el agrupamiento en la estructura de unión, formando los complejos cadherina-cateninas (18).

La cadherina P alterada se ha detectado en varios tumores humanos, aunque su rol no está claro en el proceso carcinogénico, pues depende del modelo estudiado. En cáncer de mama la expresión de cadherina P se ha asociado a un aumento de la invasión celular y agresividad tumoral y constituye un factor que indica peor pronóstico. Además, estudios han demostrado expresión aberrante de cadherina P en un pequeño grupo de carcinomas, esencialmente de fenotipo TN (19, 20).

Una forma de realizar el análisis de estos marcadores de adhesión celular es mediante el análisis de expresión génica; sin embargo, la mayoría de los especímenes clínicos archivados no permiten este tipo de análisis; su alto costo y la falta de disponibilidad en muchos países ha determinado el empleo de otras técnicas, como el uso de inmunohistoquímica. Diferentes estudios comparando resultados obtenidos mediante el uso de matrices de expresión génica e inmunohistoquímica (IHQ) para receptor de estrógeno (RE), receptor de progesterona (RP) y HER2 han demostrado una buena correlación, superior al 92% (21-23).

Finalmente, esta investigación tiene con objetivo general determinar, a través de IHQ, el perfil de inmunexpresión de cadherinas E y P en el tumor primario, relacionando su expresión con las clases moleculares de carcinoma de mama y la supervivencia global de las pacientes evaluadas.

PACIENTES Y MÉTODOS

Muestra

Se realizó un estudio de campo, descriptivo, transversal y retrospectivo, con la aprobación del Comité de Ética y de la Comisión de Investigación del Instituto de Oncología "Dr. Miguel Pérez Carreño" de Valencia, Venezuela. Se conformó una muestra no aleatoria, de tipo intencional, con 354 pacientes, de acuerdo a los si-

guientes criterios de inclusión: a) sexo femenino, b) diagnóstico de carcinoma ductal infiltrante de mama sin otra especificación, o mixto, con componente ductal predominante, c) disponibilidad de las preparaciones histológicas y bloques de parafina respectivos correspondientes al diagnóstico inicial en el archivo del Servicio de Anatomía Patológica del Instituto y d) suficiente tejido tumoral para realizar las matrices de tejido.

Definición de las variables estudiadas

Con base a los resultados obtenidos del análisis inmunohistoquímico de RE, RP y HER2, y de acuerdo a los criterios aceptados (21-23) se clasificaron los casos como sigue: Luminal A: RE+, RP+; Luminal B: Positivo a RE o RP, independientemente del marcaje de HER2; HER2+: RE-, RP-, HER2+ y TN: RE-, RP-, HER2-.

Para la supervivencia global (SG) en meses se tomó como punto de corte un seguimiento de 60 meses (5 años), con un mínimo de 36 meses. Se evaluó únicamente la supervivencia global. Se estableció el tiempo de supervivencia como el tiempo transcurrido desde el diagnóstico hasta la fecha de la muerte, en caso de haber ocurrido antes de los 60 meses.

Construcción de la matriz de tejidos

Las matrices de tejidos (*tissue arrays*, TMA) así como la técnica de IHQ, fueron realizadas en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Universitario La Paz de Madrid (España).

Todas las muestras tisulares previamente habían sido fijadas en formol al 10% e incluidas en parafina siguiendo los métodos convencionales. De los bloques de parafina se obtuvieron secciones histológicas de 4 μ m de espesor que posteriormente se tiñeron con hematoxilina-eosina. Se revisaron las preparaciones histológicas y se seleccionaron cuidadosamente las zonas con

tumor, marcando esas mismas áreas en el bloque de parafina.

Para realizar los TMA se prepararon los bloques receptores o bloques únicamente de parafina, de un tamaño aproximado de 5 por 4 cm. La serie completa de bloques donantes se dividió en grupos de 41 bloques. En cada tumor se seleccionaron dos zonas diferentes en el bloque de tejido donante. Se estableció el orden de estos bloques en una plantilla que sirvió después para su lectura en el microscopio.

El bloque receptor se colocó en la base del equipo *tissue arrayer* (estación de trabajo Beecher Instruments, Silver Spring, MD, USA) ajustándose bien a ésta para evitar su movimiento. Este equipo consta de dos agujas de distintos calibre con las que se realiza el troquelado de los bloques. Con la aguja de mayor calibre se extrae un cilindro de parafina del bloque receptor dejando el espacio donde se introducen los cilindros obtenidos de los bloques donantes. Con la aguja de menor calibre se obtiene el cilindro con el material de la zona marcada del bloque donante que se introduce en el bloque receptor. Para asegurar la zona elegida a estudio se realiza un duplicado de la plantilla en el mismo bloque obteniéndose así dos cilindros de 1 mm de diámetro de cada caso.

Una vez terminado el proceso de troquelado de todos los bloques, se introdujo el nuevo bloque en la estufa a una temperatura de 45°C durante 5 min para que la parafina de los cilindros y del bloque receptor se amolde y la superficie se alise.

Finalmente, se realizaron cortes histológicos de 4 μ m en un micrótopo de rotación (Microm HM350S) y cada uno fue recogido en láminas portaobjetos tratadas previamente y secadas durante 30 min a 65°C en estufa, para evitar el desprendimiento de los cortes. Inicialmente se construyeron nueve bloques (ocho con 41 casos y uno con 40 casos) y luego se construyó

uno adicional con casos sin celularidad neoplásica representativa en las dos muestras obtenidas previamente de cada caso. Catorce casos tuvieron que ser desechados por no presentar suficiente tejido tumoral, por lo que finalmente se analizaron 354 tumores de los 368 casos inicialmente incluidos en el estudio. Finalmente, se procedió a la realización de la técnica de IHQ.

Inmunohistoquímica (IHQ)

Se utilizó el método inmunohistoquímico de la estreptavidina biotina-peroxidasa (SBP), con el sistema Autostainer Plus de Dako®, según el protocolo indicado por la casa comercial.

La desparafinación y la recuperación antigénica se realizaron en el equipo PT Link (Dako) con un buffer Tris-EDTA pH 9 (Dako) a 95°C durante 20 min. Una vez terminada la recuperación antigénica, las muestras se colocaron en un equipo de inmunotinción automática en horizontal (Autostainer). Las muestras se lavaron en agua destilada y a continuación en tampón Tris pH 7,4 a temperatura ambiente. Se realizó la incubación con el anticuerpo primario. Las muestras se lavaron en tampón Tris pH 7,4 y se añadió el anticuerpo secundario conjugado. Por último, las muestras se lavaron en tampón Tris pH 7,4 y se revelaron mediante la aplicación del cromógeno diaminobencidina durante 5 min. Finalmente, se llevó a cabo la contra tinción de las secciones tisulares con hematoxilina.

Los anticuerpos utilizados, la dilución, clon y fuente se muestran en la Tabla I.

Interpretación de los resultados del estudio inmunohistoquímico

Para realizar la valoración de las moléculas de adhesión y su asociación con las clases moleculares y SG de las pacientes, se establecieron tres intervalos de porcentaje de expresión; así, se consideraron las siguientes situaciones: a) no expresión de la

TABLA I
DILUCIÓN, CLON Y FUENTE DE ANTICUERPOS UTILIZADOS

Marcador	Dilución	Clon	Marca comercial	Localización del marcaje
RE	1/50	GF 11	Novocastra	Nuclear
RP	1/100	clon 636	Dako	Nuclear
HER2	Prediluido	Herceptest	Dako	Membrana
Cadherina E	Prediluido	NCI	Dako	Membrana
Cadherina P	1/100	56	BD	Membrana

molécula 0%, b) positivo focal (1-50% de células tumorales positivas) y c) positivo difuso (>50% de células tumorales positivas). Cada cilindro de 1 mm de diámetro de los TMA, fue analizado en su totalidad en dos ocasiones por tres patólogos y los datos recogidos se anotaron en tablas diseñadas para tal fin. Se consideró como valor definitivo el promedio de las observaciones.

Análisis estadístico

El análisis de los datos recogidos se realizó mediante el paquete estadístico SPSS versión 19 (IBM Statistical Package for Social Sciences, Inc., Chicago, IL). La asociación entre las clases moleculares y los marcadores inmunohistoquímicos se analizó con la determinación de Chi cuadrado y el test exacto de Fisher. Por su parte, el estudio de supervivencia se realizó mediante el método de Kaplan-Meier y se compararon con los test de log-rank y Breslow. Se consideraron significativos valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

La edad media de las pacientes en el momento del diagnóstico fue de 51,28 años, con un rango de 58 años (27-85 años). Un 52% tenían 50 años de edad o menos y un 48% eran mayores de 50 años.

Se logró obtener el seguimiento de 321 pacientes. El tiempo de seguimiento para las pacientes no fallecidas varió de 36 a 112 me-

ses. La supervivencia global media fue de 46,11 meses, con rango de 58 meses (2 a 60) y desviación típica de $\pm 16,21$ meses.

Un 57,3% de los pacientes fallecieron por la neoplasia a lo largo del seguimiento, mientras que un 42,7% permanecieron vivas durante el lapso del mismo.

En esta serie de 354 tumores, el porcentaje de expresión positiva para RE fue de 57,9% (205 de 354), 49,4% (175 de 354) para RP y 14,7% (52 de 354) para HER2. En base a estos resultados se establecieron las clases moleculares clásicas de acuerdo a los siguientes porcentajes: Luminal A 42,4% (150 de 354), Luminal B 20,3% (72 de 354), HER2 9% (32 de 354) y TN 28,2% (100 de 354).

La expresión de las cadherinas, con sus respectivos porcentajes para cada una, se muestra en la Tabla II. Algunos casos no fueron valorables por desgaste del bloque de parafina.

La Fig. 1 muestra ejemplos representativos de los patrones de expresión inmunohistoquímica observados en los marcadores analizados en este estudio.

El porcentaje de positividad de expresión de las cadherinas de acuerdo a las clases moleculares, con sus respectivos porcentajes, así como el significado estadístico se muestra en la Tabla III. En ella se observa que para las clases luminales y HER2, predominaron los casos con un marcaje de cadherina E en más del 50% de las células

TABLA II
EXPRESIÓN DE MARCADORES DE ADHESIÓN
POR INMUNOHISTOQUÍMICA

Marcador		[n (%)]
Cadherina E	Negativo	23 (7,5)
	Positivo	284 (92,5)
	Total	307 (100)
Cadherina P	Negativo	194 (59,5)
	Positivo	132 (40,5)
	Total	326 (100)

Se observó expresión de ambos marcadores en 110 casos.

tumorales, con pocos casos negativos o con inmunotinción inferior al 50%. En cambio, en la clase molecular TN, se evidenció un importante número de casos (36,9%), que presentaron un marcaje de 1-50% de las células. Esta diferencia respecto a las otras clases moleculares, fue estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

Por su parte, con respecto a la expresión de la cadherina P, cabe resaltar el alto

porcentaje de casos positivo focales para las clases moleculares, igualmente con una $p < 0,001$.

La relación de los marcadores de adhesión celular con la media de SG se presenta en la Tabla IV; se evidencian diferencias estadísticamente significativas para los casos con expresión de cadherina P.

Finalmente, en cuanto a la expresión de cadherina E para las diferentes clases moleculares, no se presentó diferencia significativa con la SG media. En relación a la expresión de cadherina P, no se evidenció significado estadístico para las clases luminales y HER2 al relacionarlos con la SG, en cambio, en la clase TN se observó que a mayor expresión de esta proteína, disminuía la SG media, con diferencia significativa ($p = 0,022$) (Tabla V).

DISCUSIÓN

En el presente estudio se observó que la edad media de las pacientes fue de 51,28 años, que concuerda con otras publicacio-

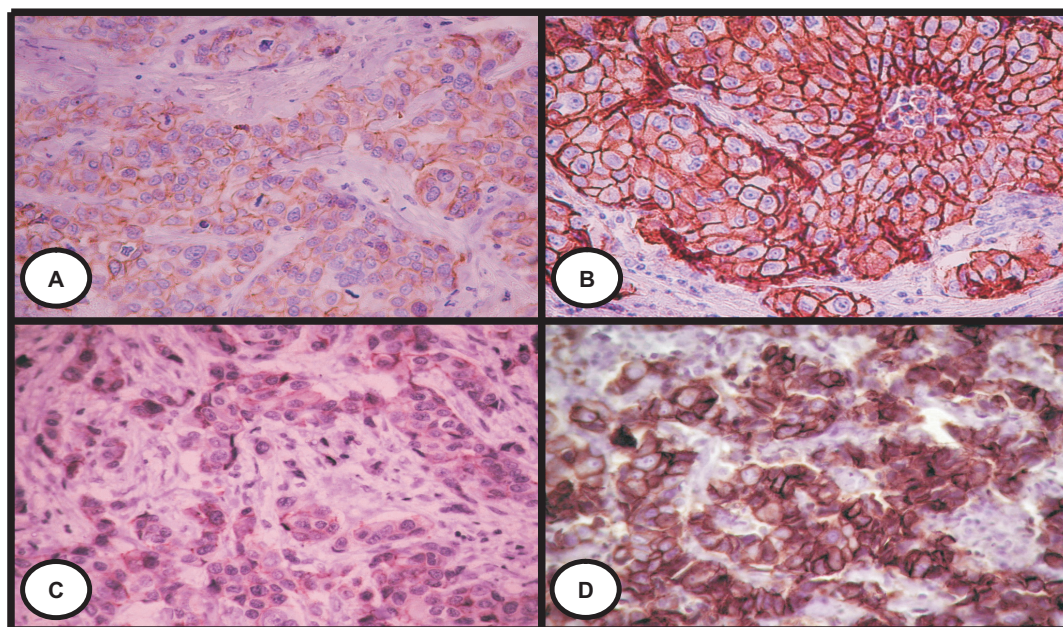


Fig. 1. Expresión de proteínas estudiadas por inmunohistoquímica en matrices de tejidos. Cadherina e: (a) positivo focal, (b) positivo difuso. Cadherina p: (c) positivo focal, (d) positivo difuso. Aumento original de 200x.

TABLA III
PORCENTAJE DE EXPRESIÓN DE MARCADORES DE ADHESIÓN CELULAR EN LAS CLASES MOLECULARES

Marcador	Expresión (%)	Clase Molecular [n (%)]				p
		LA	LB	HER2	TN	
Cad E	0	11 (8,3)	7 (10,9)	1 (3,8)	4 (4,8)	<0,001
	1-50	14 (10,5)	11 (17,2)	2 (7,7)	31 (36,9)	
	>50	108 (81,2)	46 (71,9)	23 (88,5)	49 (58,3)	
	Total	133 (43,3)	64 (20,8)	26 (8,5)	84 (27,4)	
Cad P	0	118 (84,3)	44 (66,7)	9 (30)	23 (25,6)	<0,001
	1-50	20 (14,3)	16 (24,2)	13 (43,3)	42 (46,7)	
	>50	2 (1,4)	6 (9,1)	8 (26,7)	25 (27,7)	
	Total	140 (42,9)	66 (20,2)	30 (9,2)	90 (27,7)	

Cad: Cadherina; LA: Luminal A; LB: Luminal B; TN: Triple negativo.

Valor de p con respecto a la expresión entre las diferentes clases moleculares.

TABLA IV
SUPERVIVENCIA GLOBAL MEDIA EN RELACIÓN AL PORCENTAJE DE EXPRESIÓN DE MARCADORES DE ADHESIÓN CELULAR

Marcador	Expresión (%)	Supervivencia global (SG) (media de meses $\pm$ DE)	p
Cadherina E	0	47,619 $\pm$ 3,070	0,153
	1-50	41,945 $\pm$ 2,137	
	>50	46,236 $\pm$ 1,126	
Cadherina P	0	50,846 $\pm$ 0,942	<0,001
	1-50	40,133 $\pm$ 1,886	
	>50	37,425 $\pm$ 2,881	

Valor de p con respecto a la SG en las diferentes categorías de expresión.

nes en donde la media está alrededor de los 50 años (24, 25), difiriendo de otros trabajos como el de Bauer y col. (26), quienes refieren en una extensa recopilación de más de cincuenta mil casos que la edad media de las pacientes fue de 54 años para la clase TN y de 60 años para las clases restantes. Llama la atención en nuestra serie el elevado porcentaje de casos de carcinoma de mama en mujeres por debajo de 50 años. La media de edad menor se presentó en pacientes con carcinoma TN, lo cual concuerda con la literatura (25, 27).

En relación al fenotipo molecular predominante fue el Luminal A, con el 42,4% (150 casos); el Luminal B representó el 20,3% (72 casos), con un total de 62,7% de casos luminales (222 casos, 67,6% de Luminal A y 32,4% de Luminal B).

Estos resultados difieren de lo reportado por Blows y col. (28), en un estudio que incluyó doce centros que comprendieron más de diez mil casos, en el cual refieren un total de 77% de casos luminales, repartidos en un 71% de casos Luminal A y un 6% de Luminal B. Solo en uno de los doce cen-

TABLA V
SUPERVIVENCIA GLOBAL EN BASE AL PORCENTAJE DE EXPRESIÓN DE MARCADORES
DE ADHESIÓN CELULAR Y LA CLASE MOLECULAR

Marcador	Expresión (%)	Supervivencia global (SG) (media de meses $\pm$ DE)				p ₁
		LA	LB	HER2	TN	
Cad E	0	50,8 $\pm$ 3	47,3 $\pm$ 6,9	36 $\pm$ 0	43 $\pm$ 8,6	0,575
	1-50	49,9 $\pm$ 3,4	42,3 $\pm$ 4,4	36 $\pm$ 4	38,5 $\pm$ 3,1	
	>50	51,3 $\pm$ 1,3	48,3 $\pm$ 2,3	39,5 $\pm$ 3,8	36 $\pm$ 2,7	
	p ₂	0,713	0,121	0,631	0,646	
Cad P	0	51,7 $\pm$ 1,2	51,4 $\pm$ 1,8	46,9 $\pm$ 4,6	46,7 $\pm$ 3,2	0,014
	1-50	49,8 $\pm$ 2,6	37,5 $\pm$ 4,7	32,5 $\pm$ 5,5	38,9 $\pm$ 2,7	
	>50	-	50,6 $\pm$ 5,8	44 $\pm$ 5,1	30,9 $\pm$ 3,5	
	p ₂	0,121	0,063	0,442	0,022	

Celdas sin datos corresponden a estratos sin casos o con todos los casos censurados.

Cad: Cadherina; LA: Luminal A; LB: Luminal B; TN: Triple negativo.

p₁: Valor de p con respecto a la SG entre las diferentes clases moleculares.

p₂: Valor de p con respecto a la SG dentro de cada clase molecular.

tros participativos en ese estudio se refieren porcentajes similares a los obtenidos en este trabajo, con un 42% de casos con fenotipo Luminal A y un 15% de casos con fenotipo Luminal B. En el resto de artículos los porcentajes oscilan entre 69 y 86% para la clase Luminal A y entre un 4 y 11% para la clase Luminal B.

El 9% (32 casos) de los pacientes de este estudio correspondió a carcinomas de mama de tipo HER2, siendo este resultado comparable al publicado en otros estudios (28-30). En general, la tasa de casos HER2 está entre un 15 a 30%, aunque debe señalarse que en estos porcentajes se incluyen los casos que también tuvieron receptores hormonales positivos, que son clasificados molecularmente como Luminal B y, por tanto, no se consideran en la clase HER2 (8, 31-34). Hoy en día se sabe que estos dos tipos de carcinoma son entidades diferentes y deben seguir siendo clasificadas separadamente (33, 35).

En cuanto a los casos TN, basales y no basales juntos, el porcentaje fue de un 28,2% (100 casos), bastante mayor que la frecuen-

cia en mujeres caucásicas, en quienes la media es de 16% (89 casos), pero comparable con las cifras referidas en mujeres afroamericanas e hispánicas (27, 29, 36).

La heterogeneidad del carcinoma de mama es un hecho bien reconocido y aceptado. Bajo el término global de cáncer de mama se incluyen tumores muy heterogéneos con diferentes características clínicas, evolutivas y respuesta a tratamientos específicos, a pesar de tener similitudes en el tipo histológico, grado y estadio. Esta variabilidad se ha tratado de explicar por el origen de las células madre cancerosas con potenciales evolutivos diferentes y un significativo número de alteraciones genéticas posibles, que se traduce en distintos patrones de expresión de moléculas proteicas detectadas por IHQ (30, 31).

En este estudio se confirmó esta heterogeneidad tumoral al observar porcentajes de expresión muy variados para los 2 marcadores utilizados, entre 92,5% para la cadherina E y 40,5% para la cadherina P.

Estos marcadores de adhesión celular están involucrados en la TEM, caracterizado

por un conjunto de eventos celulares que permite la conversión de células epiteliales en células migratorias. Este evento sucede durante el desarrollo de los vertebrados y se mantiene silente en la etapa adulta de los organismos; no obstante, puede ser reactivada en enfermedades como la fibrosis y la progresión de los tumores (15, 16).

La TEM ha sido difícil de documentar y como explicación se han señalado varios argumentos, a saber: 1) una TEM incompleta puede ser suficiente para que las células produzcan metástasis; 2) la TEM puede ocurrir solamente en un pequeño número de células en un tumor, que rápidamente desaparecerían al trasvasarse en los vasos linfáticos o sanguíneos; 3) después de la colonización, las células tumorales revierten el proceso, ocurriendo la transición mesénquimo epitelial. Un creciente número de evidencia sugiere que la TEM es responsable de la adquisición de resistencia terapéutica por parte de las células cancerosas, y en la generación de células con características de células madre y un alto potencial tumorigénico (37, 38).

Muchos estudios han verificado la relación existente entre la pérdida de expresión de la cadherina E con la capacidad de invasión y metástasis en múltiples carcinomas, entre ellos el carcinoma de mama (39-41). Estos trabajos sugieren que la ausencia de expresión de cadherina E es un marcador de progresión y agresividad tumoral. En la serie del presente estudio, la expresión de cadherina E se observó conservada en la mayoría de los casos de esta serie, 92,5% de los tumores, tal como se esperaba. Los tumores de fenotipo TN presentaron un porcentaje elevado (41,7%) con expresión ausente o reducida (positivo focal), siendo esta diferencia estadísticamente significativa con respecto a las otras clases moleculares. La expresión positiva para la cadherina E en los diferentes tipos moleculares de cáncer de mama, estuvo dentro del rango

encontrado en otros estudios (15-17, 42). La pérdida de la expresión de cadherina E se considera un paso necesario de la TEM (43, 44).

No se apreció en la serie estudiada en este trabajo valor pronóstico significativo ($p=0,153$) al analizar la SG a 5 años de las pacientes con tumores con ausencia o expresión reducida de cadherina E, a pesar de su asociación con los tumores TN y en general de una menor supervivencia media. En el presente trabajo, la expresión de cadherina E no presentó diferencias estadísticamente significativas para las clases moleculares. En otros estudios publicados si se ha encontrado valor pronóstico a la falta de expresión de esta molécula (45-47).

Las cadherinas E son participe en la mediación de la carcinogénesis, ya que actúan como proteínas supresoras de tumores, por su capacidad para bloquear la proliferación incontrolada y la diferenciación celular hacia un fenotipo maligno. En consecuencia, una completa o parcial expresión de cadherina E está implicada en la capacidad de invasión y metástasis de un tumor maligno. Su ausencia se asocia con frecuencia a gran tamaño del tumor, estado ganglionar metastásico, recurrencia tumoral local o regional, bajo grado de diferenciación, estadio tumoral avanzado y fenotipo TN (16, 17).

Los datos de la literatura indican mutaciones del gen de la cadherina E (*CDH1*) asociadas a una expresión débil o ausente principalmente en los carcinomas lobulillares infiltrantes, sin tener en cuenta el estadio tumoral o la evolución clínica. La ausencia de expresión de cadherina E asociada a tumores ductales infiltrantes, sugiere la posibilidad de que realmente se traten de casos lobulillares invasivos o el componente lobulillar de un tumor mixto, hecho reportado en otras investigaciones (15, 17). En el presente trabajo, 7,5% (23 de 307 casos) resultaron negativo a la expresión de cadherina E.

La cadherina P, por su parte, se expresó en el 40,5% de los casos, y aunque expresada en todas las clases, la proporción fue significativamente mayor en los casos TN ($p < 0,001$), tal como lo indican varias publicaciones en especial en la revisión de Paredes y col. (18). Sarrio y col. (46) reportan alrededor de un 83% de positividad en los tumores de fenotipo basal y Rahka y col. (25) un 79%.

Esta es la clase molecular que ha recibido mayor atención en la literatura, en parte por el mal pronóstico que tiene, así como por la ausencia de terapia específica, a diferencia de lo que ocurre con las otras clases moleculares. Recientemente ha quedado demostrado, tanto en la literatura publicada (4-9), que no todos los casos con el fenotipo TN son de tipo basal, existiendo al menos dos grandes subtipos: TN con expresión de marcadores basales (TNB) y TN con ausencia de expresión de marcadores relacionados con el tipo basal (TNnB).

Para separar estos dos subtipos de TN, se han utilizado diferentes marcadores, estudios han descrito una gran variedad de marcadores, entre ellos la vimentina, actina, p63, C-Kit, CD10, p120, calponina, ALDH1, BRCA1 y BRCA2 (del inglés *breast cancer* 1 y 2) o cadherina P para su caracterización o para predecir el pronóstico en este grupo (22, 46, 48). Esto ha aumentado el interés en la realización de estudios detallados de la cadherina P en este tipo de cáncer.

Con el desarrollo de anticuerpos monoclonales comerciales anti-cadherina P, se demostró que ésta se expresa en casi la mitad de los carcinomas ductales invasivos de la mama (alrededor de 30% a 50%), pero es poco frecuente en el tipo lobulillar infiltrante, en el que el evento oncogénico principal es la pérdida de la expresión de cadherina E (18).

En este estudio la expresión de cadherina P presentó relación negativa con la su-

pervivencia global ($p < 0,001$) y relación estadísticamente significativa con la clase TN ($p = 0,022$). La expresión de cadherina P en el cáncer de mama es considerada un marcador de la transición epitelio mesénquima (18, 46), hecho establecido como un paso que favorece las metástasis (43, 44).

Diversas investigaciones han informado que la expresión de cadherina P está inversamente relacionada con la expresión de receptores hormonales (la mayoría de los casos son negativos para RE y RP) y directamente relacionado con la expresión de EGFR, HER2 y p53, alta tasa de proliferación e índice mitótico y la disminución de la diferenciación celular; condiciones biológicas asociaciones con pobre supervivencia de las pacientes de cáncer de mama. Basándose en estos hallazgos, la expresión de cadherina P se considera un buen indicador de mal pronóstico en pacientes con cáncer de mama (18, 44).

En conclusión, en este trabajo no se evidenció una relación entre la expresión de cadherina E y la SG, mientras si se observó una asociación negativa entre la expresión de cadherina P y la SG. Además, en la clase TN fue donde existió un menor porcentaje de casos con expresión de cadherina E y mayor de cadherina P.

AGRADECIMIENTOS

A todo el personal que labora en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Universitario La Paz de Madrid (España).

REFERENCIAS

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 11. GLOBOCAN 2012. International Agency for Research on Cancer 2013.

2. **Ministerio del Poder Popular para la Salud.** Anuario de mortalidad 2011. [Documento en línea, consultado en febrero 2014]. Disponible en: http://www.mpps.gob.ve/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=11:anuarios-de-mortalidad.
3. **Pusztai L, Mazouni C, Anderson K, Wu Y, Symmans WF.** Molecular classification of breast cancer: limitations and potential. *Oncologist* 2006; 11:868-877.
4. **Anders CK, Carey LA.** Biology, metastatic patterns, and treatment of patients with triple-negative breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2009; 9 Suppl 2:S73-81.
5. **Bhargava R, Striebel J, Beriwal S, Flickinger JC, Onisko A, Ahrendt G, Dabbs DJ.** Prevalence, morphologic features and proliferation indices of breast carcinoma molecular classes using immunohistochemical surrogate markers. *Int J Clin Exp Pathol* 2009; 2:444-455.
6. **Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, Watson M, Davies S, Bernard PS, Parker JS, Perou CM, Ellis MJ, Nielsen TO.** Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101:736-750.
7. **Loi S, Sotiriou C, Haibe-Kains B, Lallemand F, Conus NM, Piccart MJ, Speed TP, McArthur GA.** Gene expression profiling identifies activated growth factor signaling in poor prognosis (Luminal-B) estrogen receptor positive breast cancer. *BMC Med Genomics* 2009; 2:37.
8. **Choi YL, Oh E, Park S, Kim Y, Park YH, Song K, Cho EY, Hong YC, Choi JS, Lee JE, Kim JH, Nam SJ, Im YH, Yang JH, Shin YK.** Triple-negative, basal-like, and quintuple-negative breast cancers: better prediction model for survival. *BMC Cancer* 2010; 10:507.
9. **Sircoulomb F, Bekhouche I, Finetti P, Adélaïde J, Ben Hamida A, Bonansea J, Raynaud S, Innocenti C, Charafe-Jauffret E, Tarpin C, Ben Ayed F, Viens P, Jacquemier J, Bertucci F, Birnbaum D, Chaffanet M.** Genome profiling of ERBB2-amplified breast cancers. *BMC Cancer* 2010; 10:539.
10. **Cariati M, Purushotham AD.** Stem cells and breast cancer. *Histopathology* 2008; 52:99-107.
11. **Charafe-Jauffret E, Ginestier C, Lovino F, Wicinski J, Cervera N, Finetti P, Hur MH, Diebel ME, Monville F, Dutcher J, Brown M, Viens P, Xerri L, Bertucci F, Stassi G, Dontu G, Birnbaum D, Wicha MS.** Breast cancer cell lines contain functional cancer stem cells with metastatic capacity and a distinct molecular signature. *Cancer Res* 2009; 69:1302-1313.
12. **Rosen JM, Jordan CT.** The increasing complexity of the cancer stem cell paradigm. *Science* 2009; 324:1670-1673.
13. **Pandey PR, Saidou J, Watabe K.** Role of myoepithelial cells in breast tumor progression. *Front Biosci* 2010; 15:226-236.
14. **Katz E, Dubois-Marshall S, Sims AH, Gautier P, Caldwell H, Meehan RR, Harrison DJ.** An in vitro model that recapitulates the epithelial to mesenchymal transition (EMT) in human breast cancer. *PLoS ONE* 2011; 6:e17083.
15. **Baranwal S, Alahari SK.** Molecular mechanisms controlling E-cadherin expression in breast cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 384:6-11.
16. **Koo JS, Jung W, Jeong J.** The predictive role of E-cadherin and androgen receptor on in vitro chemosensitivity in triple-negative breast Cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2009; 39:560-568.
17. **Ionescu C, Giușcă SE, Liliac L, Avadanei R, Ceașu R, Cîmpean AM, Balan R, Amălinei C, Ciobanu Apostol D, Căruntu ID.** E-cadherin expression in molecular types of breast carcinoma. *Rom J Morphol Embryol* 2013; 54:267-273.
18. **Paredes J, Correia AL, Ribeiro AS, Albergaria A, Milanezi F, Schmitt FC.** P-cadherin expression in breast cancer: a review. *Breast Cancer Res* 2007; 9:214.
19. **Gamallo C, Moreno-Bueno G, Sarrió D, Calero F, Hardisson D, Palacios J.** The prognostic significance of P-cadherin in infiltrating ductal breast carcinoma. *Mod Pathol* 2001; 14:650-654.
20. **Sousa B, Paredes J, Milanezi F, Lopes N, Martins D, Dufloth R, Vieira D, Albergaria A, Veronese L, Carneiro V,**

- Carvalho S, Costa JL, Zeferino L, Schmitt F. P-cadherin, vimentin and CK14 for identification of basal-like phenotype in breast carcinomas: an immunohistochemical study. *Histol Histopathol* 2010; 25:963-974.
21. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, Hernandez-Boussard T, Livasy C, Cowan D, Dressler L, Akslen LA, Ragaz J, Gown AM, Gilks CB, van de Rijn M, Perou CM. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10:5367-5374.
 22. Livasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova MS, Olopade OI, Moore DT, Perou CM. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol* 2006; 19:264-271.
 23. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, Gatti L, Moore DT, Collichio F, Ollila DW, Sartor CI, Graham ML, Perou CM. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* 2007; 13:2329-2334.
 24. Park SY, Kwon HJ, Choi Y, Lee HE, Kim SW, Kim JH, Kim IA, Jung N, Cho NY, Kang GH. Distinct patterns of promoter CpG island methylation of breast cancer subtypes are associated with stem cell phenotypes. *Mod Pathol* 2012; 25:185-196.
 25. Rakha EA, Elsheikh SE, Aleskandarany MA, Habashi HO, Green AR, Powe DG, El-Sayed ME, Benhasouna A, Brunet JS, Akslen LA, Evans AJ, Blamey R, Reis-Filho JS, Foulkes WD, Ellis IO. Triple-negative breast cancer: distinguishing between basal and nonbasal subtypes. *Clin Cancer Res* 2009; 15:2302-2310.
 26. Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California cancer Registry. *Cancer* 2007; 109:1721-1728.
 27. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, Karaca G, Troester MA, Tse CK, Edmiston S, Deming SL, Geradts J, Cheang MC, Nielsen TO, Moorman PG, Earp HS, Millikan RC. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006; 295: 2492-2502.
 28. Blows FM, Driver KE, Schmidt MK, Broeks A, van Leeuwen FE, Wesseling J, Cheang MC, Gelmon K, Nielsen TO, Blomqvist C, Heikkilä P, Heikkinen T, Nevanlinna H, Akslen LA, Bégin LR, Foulkes WD, Couch FJ, Wang X, Cafourek V, Olson JE, Baglietto L, Giles GG, Severi G, McLean CA, Southey MC, Rakha E, Green AR, Ellis IO, Sherman ME, Lissowska J, Anderson WF, Cox A, Cross SS, Reed MW, Provenzano E, Dawson SJ, Dunning AM, Humphreys M, Easton DF, García-Closas M, Caldas C, Pharoah PD, Huntsman D. Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *PLoS Med* 2010; 7:e1000279.
 29. O'Brien KM, Cole SR, Tse CK, Perou CM, Carey LA, Foulkes WD, Dressler LG, Geradts J, Millikan RC. Intrinsic breast tumor subtypes, race, and long-term survival in the Carolina Breast Cancer Study. *Clin Cancer Res* 2010; 16:6100-6110.
 30. Salhia B, Tapia C, Ishak EA, Gaber S, Berghuis B, Hussain KH, Duquette RA, Resau J, Carpten J. Molecular subtype analysis determines the association of advanced breast cancer in Egypt with favorable biology. *BMC Womens Health* 2011; 11:44.
 31. Weigel MT, Dowsett M. Current and emerging biomarkers in breast cancer: prognosis and prediction. *Endocr Relat Cancer*. 2010; 17:R245-262.
 32. Carey LA. Directed therapy of subtypes of triple-negative breast cancer. *The Oncologist* 2011; 16:71-78.
 33. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ. Panel members. Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary

- Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol* 2011; 22:1736-1747.
34. **Tsang RY, Finn RS.** Beyond trastuzumab: novel therapeutic strategies in HER2-positive metastatic breast cancer. *Br J Cancer* 2012; 106:6-13.
 35. **Emde A, Mahlknecht G, Maslak K, Ribba B, Sela M, Possinger K, Yarden Y.** Simultaneous inhibition of estrogen receptor and the HER2 pathway in breast cancer: effects of HER2 abundance. *Transl Oncol* 2011; 4:293-300.
 36. **Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V.** Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California cancer Registry. *Cancer* 2007; 109:1721-1728.
 37. **Creighton CJ, Li X, Landis M, Dixon JM, Neumeister VM, Sjolund A, Rimm DL, Wong H, Rodríguez A, Herschkowitz JI, Fan C, Zhang X, He X, Pavlick A, Gutierrez MC, Renshaw L, Larionov AA, Faratian D, Hilsenbeck SG, Perou CM, Lewis MT, Rosen JM, Chang JC.** Residual breast cancers after conventional therapy display mesenchymal as well as tumor-initiating features. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106:13820-13825.
 38. **Polyak K, Weinberg RA.** Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits. *Nat Rev Cancer* 2009; 9:265-273.
 39. **Rodríguez FJ, Lewis-Tuffin L, Anastasiadis P.** E-cadherin's dark side: possible role in tumor progression. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1826:23-31.
 40. **Andrews JL, Kim AC, Hens JR.** The role and function of cadherins in the mammary gland. *Breast Cancer Res* 2012; 14:203.
 41. **ElMoneim HM, Zaghloul NM.** Expression of E-cadherin, N-cadherin and snail and their correlation with clinicopathological variants: an immunohistochemical study of 132 invasive ductal breast carcinomas in Egypt. *Clinics (Sao Paulo)* 2011; 66:1765-1771.
 42. **Sethi S, Sarkar FH, Ahmed Q, Bandyopadhyay S, Nahleh ZA, Semaan A, Sakr W, Munkarah A, Ali-Fehmi R.** Molecular markers of epithelial-to-mesenchymal transition are associated with tumor aggressiveness in breast carcinoma. *Transl Oncol* 2011; 4:222-226.
 43. **Shapiro IM, Cheng AW, Flytzanis NC, Balsamo M, Condeelis JS, Oktay MH, Burge CB, Gertler FB.** An EMT-driven alternative splicing program occurs in human breast cancer and modulates cellular phenotype. *PLoS Genet* 2011; 7:e1002218.
 44. **May CD, Sphyris N, Evans KW, Werden SJ, Guo W, Mani SA.** Epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells: a dangerously dynamic duo in breast cancer progression. *Breast Cancer Res* 2011; 13:202.
 45. **Sontrop HM, Verhaegh WF, Reinders MJ, Moerland PD.** An evaluation protocol for subtype-specific breast cancer event prediction. *PLoS One* 2011; 6:e21681.
 46. **Sarrió D, Rodríguez-Pinilla SM, Hardisson D, Cano A, Moreno-Bueno G, Palacios J.** Epithelial-mesenchymal transition in breast cancer relates to the basal-like phenotype. *Cancer Res* 2008; 68:989-997.
 47. **Ross JS, Slodkowska EA, Symmans WF, Pusztai L, Ravdin PM, Hortobagyi GN.** The HER-2 receptor and breast cancer: ten years of targeted anti-HER-2 therapy and personalized medicine. *Oncologist* 2009; 14:320-368.
 48. **Reigosa A, Fernández A, Gutiérrez D, Caleiras E, Hardisson D, Espig H, Saldivia F, Juarranz A, Sanz F.** Expresión de p63 y citoqueratina 5/6 en los diferentes tipos moleculares del carcinoma de mama. *Rev Esp Patol* 2010; 43:79-85.