

**ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE HER2/GRB7 Y SU ASOCIACIÓN CON VARIABLES  
CLINICOPATOLÓGICAS EN UN GRUPO DE MUJERES CON DIAGNÓSTICO DE  
CÁNCER DE MAMA INVASIVO**

**MAYRA ALEJANDRA RAMÍREZ DÍAZ  
LINA MARÍA BEJARANO RIVERA**

**UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS  
FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACIÓN  
PROYECTO CURRICULAR LICENCIATURA EN BIOLOGÍA  
BOGOTÁ D.C - COLOMBIA  
2020**

**ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE HER2/GRB7 Y SU ASOCIACIÓN CON VARIABLES CLINICOPATOLÓGICAS EN UN GRUPO DE MUJERES CON DIAGNÓSTICO DE CÁNCER DE MAMA INVASIVO**

**MAYRA ALEJANDRA RAMÍREZ DÍAZ  
LINA MARÍA BEJARANO RIVERA**

**Plan de trabajo de Investigación- Innovación para optar al título de Licenciado en Biología**

**DIRECTOR (A)**

**MSc. CARMEN HELENA MORENO DURAN  
Universidad Distrital Francisco José de Caldas  
Facultad de Ciencias y Educación  
Licenciatura en Biología**

**DIRECTOR(A) EXTERNO**

**P.hD. SILVIA JULIANA SERRANO GÓMEZ  
Grupo de Investigación Biología del Cáncer  
Instituto Nacional de Cancerología**

**UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS  
FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACIÓN  
PROYECTO CURRICULAR LICENCIATURA EN BIOLOGÍA**

**GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN BIOLOGÍA DEL CÁNCER  
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA  
BOGOTA D.C. 2020**

**Nota de aceptación**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Carmen Helena Moreno Durán**  
**Directora**

---

**Silvia Juliana Serrano Gómez**  
**Co-directora**

---

**Josefa Antonia Rodriguez**  
**Jurado**

**Bogotá D.C, Octubre 2020**

### **Nota aclaratoria**

“La universidad no se hace responsable de las ideas, ni del contenido del presente trabajo, debido a que estas hacen parte única y exclusivamente de los autores”. Capítulo XV, Artículo 117, Acuerdo NÚMERO 029 DE 1988 del Consejo Superior de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas.

## **AGRADECIMIENTOS**

A nuestros padres, por su sacrificio, apoyo, confianza y comprensión a lo largo de este recorrido.

A nuestra directora Ph.D Silvia Serrano, por permitirnos iniciar este proceso en su grupo de trabajo, además por su confianza, comprensión, asesoría, consejos e incondicional apoyo a lo largo del desarrollo del presente trabajo.

A nuestra directora Carmen Helena Moreno por la colaboración brindada en los procesos administrativos.

A la profesora Josefa Antonia Rodríguez por su confianza, apoyo y consejos a lo largo de la carrera. Además, por la oportunidad brindada para empezar este proceso en el Instituto Nacional de Cancerología y por la evaluación de este trabajo.

A Laura Rey por sus enseñanzas en laboratorio, constante acompañamiento y consejos en todo este proceso.

Al Instituto Nacional de Cancerología y al Grupo de Investigación en Biología del Cáncer, por abrirnos sus puertas, y por todo el valioso conocimiento adquirido allí.

A la Universidad Francisco José de Caldas, por todos los aprendizajes, experiencias y oportunidades que nos brindó a lo largo de estos años.

A la amistad que nos ha unido hasta este momento y que permitió el desarrollo de este trabajo y toda la carrera universitaria, con paciencia, apoyo y sonrisas, además de innumerables cuestionamientos sobre la vida.

Finalmente, a todas las pacientes de cáncer de mama que fueron incluidas en este estudio y en general a quienes día a día luchan contra esta enfermedad.

## RESUMEN

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea a nivel clínico y molecular (Turashili & Brogi, 2017), caracterizada por el desarrollo de neoplasias en el tejido glandular mamario (Feng et al., 2018, Sharma et al., 2010). Puede ser causada por diversos factores genéticos, hereditarios, ambientales y del estilo de vida (Shin et al., 2010; Chen et al., 2011, Morch et al., 2017). Esta enfermedad ocupa el primer lugar en incidencia y mortalidad en mujeres a nivel mundial y en Colombia. Según los datos de Globocan, en el 2018 se reportaron 3702 muertes y 13380 nuevos casos en el país, por lo que se ha considerado un problema de salud pública (Globocan, 2018; Pardo et al., 2017). Dentro de esta enfermedad se reconocen diferentes subtipos moleculares, luminales (luminal A y luminal B), HER2-enriquecido, tipo basal y *normal-like*, cada uno con características de pronóstico y comportamiento clínico-patológico diferente (Perou et al., 2000; Sorlie et al., 2001; Sorlie et al., 2003). En la práctica clínica de rutina, se utiliza la evaluación de marcadores de inmunohistoquímica en donde se evalúa la expresión de los receptores hormonales (receptor de estrógeno y receptor de progesterona), HER2 y Ki67 (Goldhirsch et al., 2011) para la asignación de los casos en subtipos de cáncer de mama. La frecuencia de estos subtipos varía entre las diferentes poblaciones (DeSantis et al., 2016; Troester et al., 2018). Para la población colombiana se ha reportado una alta prevalencia del subtipo luminal B (Gómez et al., 2015; Serrano et al., 2016; Ossa et al., 2015). A nivel molecular, en nuestra población se ha descrito una expresión diferencial de los genes *ERBB2* y *GRB7* en tumores luminal B específicamente en pacientes con una mayor fracción de ancestría indígena americana (Serrano et al., 2017), Estos genes codifican para las proteínas HER2 y GRB7, quienes están relacionadas con procesos de proliferación, supervivencia y migración celular (Loibl & Gianni, 2017; Turke et al., 2012; Luoh et al., 2019, Fernández et al., 2008), y a su vez su co-expresión se ha reportado asociada con un peor pronóstico de la enfermedad (McCann & Slamon, 2018, Sareyeldin et al., 2019; Chu et al., 2019). En Colombia, el valor pronóstico de la co-expresión HER2 y GRB7 se desconoce, por lo que el presente trabajo tuvo como objetivo analizar la presentación de variables clínico-patológicas de acuerdo a la expresión de estas proteínas en mujeres colombianas con cáncer de mama invasivo diagnosticadas en el Instituto Nacional de Cancerología entre los años 2013 y 2015. En nuestros resultados se encontró que la proteína GRB7 estuvo principalmente expresada en los subtipos HER2 positivo ( $p = < 0,05$ ). Adicionalmente, y contrario a lo reportado en la literatura, nuestros resultados sugieren que los tumores HER2+/GRB7+ presentaron un menor tamaño tumoral, menor porcentaje de recurrencia y un mayor tiempo de supervivencia libre de recaída, sugiriendo que la co-expresión de HER2 y GRB7 no confiere características de peor pronóstico en comparación a cuando solo se expresa HER2.

**Palabras clave:** *cáncer de mama, luminal B, HER2, GRB7, variables clínico-patológicas*

## TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE TABLAS .....	6
LISTA DE FIGURAS .....	7
LISTA DE ABREVIATURAS.....	8
INTRODUCCIÓN .....	9
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	11
1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA .....	11
1.2 PREGUNTA PROBLEMA.....	11
1.3 JUSTIFICACIÓN .....	11
2. OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo general .....	13
2.2 Objetivos específicos.....	13
3. MARCO CONCEPTUAL .....	14
3.1 Epidemiología del cáncer de mama.....	14
3.2 Factores de riesgo en cáncer de mama.....	16
3.3 Anatomía y desarrollo del tejido mamario .....	17
3.4 Clasificación histológica del cáncer de mama.....	18
3.5 Marcadores de clasificación de subtipos de cáncer de mama (ER, PR, HER2, Ki67) 18	
3.5.1 Receptor Estrógeno (RE) .....	19
3.5.2 Receptor de Progesterona (RP) .....	20
3.5.3 HER2 .....	21
3.5.4 Índice de proliferación celular Ki67.....	22
3.6 Variables clínico-patológicas .....	23
3.7 Subtipos moleculares del cáncer de mama .....	24
3.7.1 Luminal A.....	24
3.7.2 Luminal B.....	24
3.7.3 HER2-Enriquecido .....	25
3.7.4 Basal.....	26
3.7.5 Normal-like.....	26
3.8 Co-expresión GRB7 y HER2 .....	27
4. METODOLOGÍA .....	28
4.1 Diseño del estudio .....	28
4.2 Evaluación de receptores hormonales (RE, RP) y HER2.....	28
4.3 Evaluación por inmunohistoquímica de GRB7 .....	29
4.4 Hipótesis operativa .....	30

4.5 Evaluación de variables clínico-patológicas.....	30
4.6 Análisis estadístico .....	31
4.7 Consideraciones éticas.....	31
5. RESULTADOS.....	32
5.1 RESULTADOS POR OBJETIVO .....	35
5.1.1 Objetivo 1.....	35
5.1.2 Objetivo 2.....	38
5.1.3 Objetivo 3.....	42
6. DISCUSIÓN.....	45
7. CONCLUSIONES .....	51
8. FORTALEZAS Y LIMITACIONES .....	52
9. RECOMENDACIONES .....	53
10. BIBLIOGRAFÍA.....	54



## LISTA DE TABLAS

- Tabla 1.** Clasificación subtipos intrínsecos según el consenso de St. Gallen (2015)
- Tabla 2.** Clasificación se Her2 según Sociedad Americana de Oncología Clínica (2018)
- Tabla 3.** Definición de variables clínico-patológicas evaluadas en el estudio.
- Tabla 4.** Características generales pacientes INC 2013-2015
- Tabla 5.** Variables clínicas pacientes con cáncer de mama INC 2013-2015
- Tabla 6.** Variables patológicas pacientes con cáncer de mama INC 2013-2015
- Tabla 7.** Resultados de las pruebas de inmunohistoquímica realizadas sobre las pacientes con cáncer de mama INC 2013-2015
- Tabla 8.** Características clínico-patológicas de pacientes diagnosticadas con cáncer de mama entre el año 2013 y 2015, en el Instituto Nacional de Cancerología E.S.E, de acuerdo con los subtipos Luminal B (HER2+/-) y HER2-enriquecido.
- Tabla 9.** Características clínico-patológicas de pacientes diagnosticados con cáncer de mama entre el año 2013 y 2015, en el Instituto Nacional de Cancerología E.S.E, de acuerdo a la expresión de GRB7 en tumores HER2 positivos.
- Tabla 10.** Características clínico-patológicas de pacientes diagnosticados con cáncer de mama entre el año 2013 y 2015, en el Instituto Nacional de Cancerología E.S.E, de acuerdo a la intensidad de expresión de GRB7, en casos GRB7 positivos IMH.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Tasas de incidencia y mortalidad a nivel mundial-International Agency for Research on Cancer 2018 (Globocan, 2018)

**Figura 2.** Tasas de incidencia y mortalidad de cáncer en mujeres Colombia-International Agency for Research on Cancer 2018 (Globocan, 2018)

**Figura 3.** Anatomía del seno. Se detalla el complejo de ductos y lóbulos. Tomado de Mortazavi et al., 2016.

**Figura 4.** Comparación de un ducto normal con un carcinoma ductal invasivo (IDC) Tomado de Sharma et al. 2010

**Figura 5.** Curva de supervivencia libre de recaída de pacientes diagnosticados con tumores HER2 positivo entre el año 2013-2015 en el Instituto Nacional de Cancerología E.S.E positivo, de acuerdo a la expresión de GRB7.

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>AJCC:</b>	Comité Americano conjunto sobre el cáncer
<b>ASCO:</b>	Sociedad Americana de Oncología Clínica
<b>CAP:</b>	Colegio de Patólogos Americanos
<b>CK:</b>	Citoqueratinas
<b>CM:</b>	Cáncer de mama
<b>GRB7:</b>	Proteína 7 ligada al receptor del factor de crecimiento
<b>HER2:</b>	Receptor 2 del Factor de Crecimiento Epidérmico
<b>IHC:</b>	Inmunohistoquímica
<b>INC:</b>	Instituto Nacional de Cancerología
<b>RE:</b>	Receptor de Progesterona
<b>RP:</b>	Receptor de Progesterona
<b>SLR:</b>	Supervivencia Libre de Recurrencia
<b>TN:</b>	Triple Negativo

## INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es el carcinoma con mayor incidencia en mujeres a nivel mundial, así mismo, dentro de la población colombiana ocupa el primer lugar en incidencia y mortalidad por cáncer (Globocan, 2018; Pardo et al., 2017). En los últimos años se ha visto un incremento en las cifras de incidencia a nivel mundial; situación que puede obedecer a los esfuerzos realizados para mejorar el acceso a pruebas de tamizaje, como la mamografía (Welch et al., 2016).

El cáncer de mama es una enfermedad altamente heterogénea a nivel histopatológico y molecular (Turashvili & Brogi, 2017), que se origina en el tejido mamario por múltiples factores ambientales y genéticos (Feng et al., 2018). En el año 2000 Perou y colaboradores basándose en análisis de perfiles moleculares, propusieron una clasificación del cáncer de mama en cuatro subtipos moleculares: luminales (luminal A y luminal B), HER2 enriquecido, de tipo basal (*basal-like*), y de tipo normal (*normal-like*). El panel de expertos de St. Gallen teniendo en cuenta que cada uno de los subtipos presentan características biológicas, moleculares y de pronóstico diferente (Sorlie et al., 2001; 2003) y que el uso de técnicas moleculares como microarreglos de expresión o secuenciación de siguiente generación (*next generation sequencing*) no son costo-efectivas para los análisis de rutina en laboratorios de patología, plantearon una aproximación para la clasificación de estos, basada en técnicas de inmunohistoquímica evaluando la expresión de receptores hormonales (receptor de estrógeno (RE) y receptor de progesterona (RP)), el factor 2 de crecimiento epidérmico (HER2) y el marcador de proliferación celular Ki67 (Goldhirsch et al., 2011).

Diferencias en la distribución de subtipos de cáncer de mama han sido reportados entre grupos poblacionales (DeSantis et al., 2016; Troester et al., 2018). En población Latina, tanto de Estados Unidos como de Latinoamérica se ha reportado una alta prevalencia de subtipos más agresivos como los HER2-positivos (luminal B y HER2-enriquecido) y el triple negativo (Hines et al., 2011). En Colombia, se ha reportado que el subtipo intrínseco de cáncer de mama más prevalente es el luminal B (Gómez et al., 2015; Serrano et al., 2016). Esto es de resaltar ya que a pesar de que los subtipos luminales tienen buen pronóstico en comparación con los otros subtipos, el luminal B presenta un comportamiento clínico más agresivo comparado con el luminal A, que puede estar relacionado con la alta expresión de genes relacionados con la proliferación celular como *MKI67* y *CDK1* (Cancer genome atlas, 2012; Ades et al., 2014)

En nuestra población, se han realizado estudios de expresión génica sobre el tumor de acuerdo a la ancestría genética de las pacientes y los resultados han sugerido que las mujeres

con cáncer de mama del subtipo luminal B y con una mayor ancestría indígena americana, presentan una mayor expresión del gen *ERBB2* y de otros genes localizados en la misma región como *GRB7* (Serrano et al., 2017). *ERBB2* es un gen que codifica para la proteína HER2 que hace parte de la familia de los receptores del factor de crecimiento y participa en vías de proliferación y supervivencia celular (McCann & Slamon, 2018); su expresión se ha reportado asociada con un pronóstico desfavorable en el cáncer de mama (Engels et al., 2016; Sorlie et al., 2001).

El gen *ERBB2* se encuentra amplificado en aproximadamente el 20% de los tumores de mama (Kao & Pollack, 2006; McCann & Slamon, 2018; Sahlberg et al., 2013), y generalmente se co-amplifica con genes localizados en el locus 17q12-21, como por ejemplo *GRB7*, *STARD3*, *PERLD1*, que pueden conferir mayor un mayor potencial de proliferación a las células tumorales (Kao & Pollack, 2006; Nadler et al., 2010; Sahlberg et al., 2013) y por lo tanto conferir un peor pronóstico de la enfermedad.

La co-expresión de GRB7 y HER2 se ha reportado asociada a un peor pronóstico de la enfermedad (Nadler et al., 2010), dado probablemente por la acción conjunta de estas proteínas en el crecimiento tumoral y por el rol regulador de GRB7 en la señalización de HER2 (Bai & Luoh, 2007; De Pradip et al, 2013; Luoh, 2019). Adicionalmente la expresión de GRB7 en tumores HER2+ se ha asociado al desarrollo de resistencia a terapias anti-HER2. (Sahlberg et al., 2013; Luoh, 2019)

Considerando 1). la alta prevalencia del subtipo luminal B en nuestra población, 2). la expresión diferencial de *ERBB2* en tumores del subtipo luminal de acuerdo a la ancestría genética y 3). que la co-expresión de *ERBB2* con otros genes como *GRB7* se ha reportado asociado con un peor pronóstico de la enfermedad, resulta necesario realizar estudios que puedan aclarar las implicaciones que tiene la expresión de estos genes dentro de la población colombiana. El presente trabajo analizó las diferencias en la presentación de variables clínico-patológicas de acuerdo a la expresión proteica de HER2 y GRB7 en un grupo de tumores de los subtipos luminal B y HER2-enriquecido teniendo en cuenta la alta prevalencia y la importancia biológica de HER2 en la población Latina, aportando de esta manera a la comprensión de la biología de esta enfermedad, que aún hoy es considerada como un problema de salud pública.

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

El cáncer de mama en la actualidad es concebido como un problema de salud pública (Pardo et al., 2017), por lo que ha sido objeto de diversas investigaciones en torno a su biología tumoral, comportamiento clínico y posibles tratamientos. Sin embargo, la gran mayoría de los estudios han sido realizados principalmente en mujeres europeas y estadounidenses y un muy bajo porcentaje ha incluido mujeres de otras razas/etnias como las Latinas (Popejoy & Fullerton, 2016). Esto último es relevante, teniendo en cuenta que los resultados de diferentes estudios han sugerido que la ancestría juega un papel importante en la biología tumoral (Huo et al., 2017; Pitt et al., 2018), por lo que resulta oportuno realizar estudios en poblaciones mestizas como la latina que son producto de mestizaje de la población europea, africana e indígena americana.

En Colombia, se ha mostrado una alta prevalencia de los subtipos luminales, en especial del subtipo luminal B (Gómez et al., 2015; Ossa et al., 2015; Serrano et al., 2016) y se ha informado una expresión diferencial de algunos genes como *ERBB2* y *GRB7* en pacientes que presentan una mayor fracción de ancestría indígena americana (Serrano et al., 2017).

Teniendo en cuenta que la expresión diferencial de estos dos genes puede estar posiblemente modulada por ancestría en nuestra población, y que su co-expresión se ha relacionado con un pronóstico desfavorable de la enfermedad, resulta importante realizar estudios en nuestra población que permitan dilucidar acerca de su rol en la enfermedad. Esto mediante la evaluación de las diferencias en el comportamiento clínico-patológico de la enfermedad cuando las proteínas que son codificadas por estos genes (*HER2* y *GRB7*) se co-expresan o se expresan de forma independiente en subtipos intrínsecos de la enfermedad de interés en la población colombiana.

### 1.2 PREGUNTA PROBLEMA

¿La co-expresión de *HER2* y *GRB7* en el cáncer de mamá en mujeres colombianas confiere un comportamiento clínico más agresivo?

### 1.3 JUSTIFICACIÓN

*ERBB2* codifica para la proteína *HER2*; que es considerado un biomarcador con un importante valor pronóstico y predictivo (Blows et al., 2006; Furrer et al, 2018; Marchiò et al. 2020; Nicolini et al. 2018). Su expresión se ha reportado asociada con un fenotipo más agresivo de la enfermedad, por ejemplo, un alto grado tumoral, un mayor índice de

proliferación celular (Engels et al., 2016; Aman et al., 2019) y bajas tasas de supervivencia libre de la enfermedad y supervivencia global (Sanpaolo et al., 2011). Sin embargo, los pacientes que expresan HER2, generalmente tienden a mejorar su pronóstico al ser tratados con terapias dirigidas anti-HER2 (Mendes et al., 2015).

Por otro lado, *GRB7* codifica para la proteína 7 unida al receptor del factor de crecimiento (GRB7), está relacionado con procesos de angiogénesis, migración y proliferación celular, (Shen & Guan, 2004, Fernández et al., 2008). Además, se presume puede tener un rol importante en la señalización de HER2 (De Pradip et al., 2013; Luoh, 2019). La expresión de GRB7 también se ha visto asociado con características clínicas de mal pronóstico como un mayor tamaño del tumor, alto grado tumoral y metástasis ganglionar (Ramsey et al., 2011; Vermehren et al., 2020). Debido a esto, se le ha considerado como un posible marcador pronóstico dentro del cáncer de mama y un potencial blanco terapéutico (Ramsey et al., 2011; Chu et al. 2019).

La co-amplificación de estos genes se ha relacionado con una menor supervivencia, en comparación a cuando solo se expresa HER2 (Nadler et al., 2010) sin embargo, para la población colombiana se desconoce el valor pronóstico de la expresión independiente de HER2 y GRB7 y de su co-expresión. Por eso que nuestro trabajo se centra en analizar la diferencia en la distribución de variables clínico-patológicas de acuerdo a la expresión proteica de HER2/GRB7, en mujeres colombianas diagnosticadas con cáncer de mama invasivo con subtipos HER2 positivos entre los años 2013-2015 en el Instituto Nacional de Cancerología E.S.E (INC E.S.E). Esto, como una aproximación del impacto en el pronóstico de la enfermedad de acuerdo a la expresión de estas dos proteínas.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

Analizar las diferencias en las variables clínico-patológicas de acuerdo a la expresión proteica de HER2 y GRB7 en mujeres colombianas con cáncer de mama

### **2.2 Objetivos específicos**

1. Evaluar las diferencias en el comportamiento clínico del cáncer de mama de acuerdo con la expresión de HER2
2. Analizar las diferencias en la presentación de variables clínico-patológicas de acuerdo a la expresión de GRB7 en pacientes diagnosticadas con tumores HER2 positivos
3. Establecer la relación entre la intensidad de expresión de GRB7 con características de interés clínico



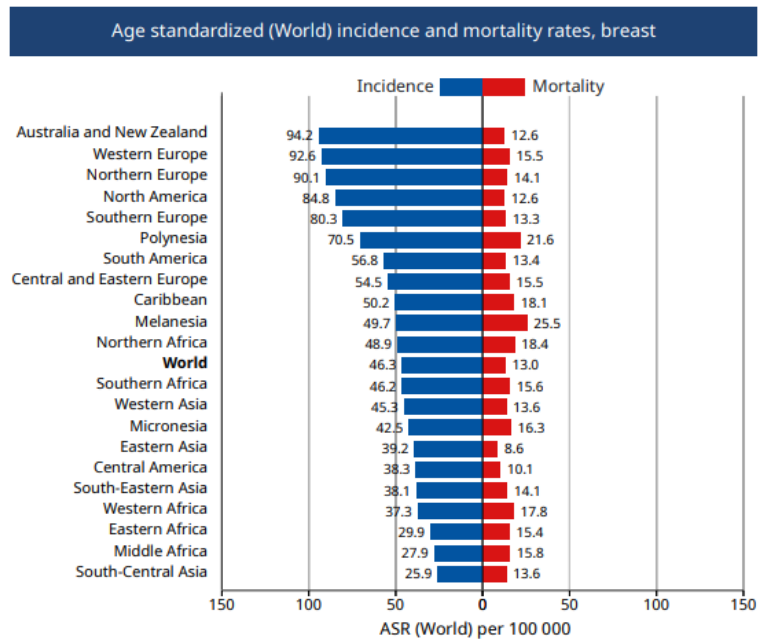
## 4. MARCO CONCEPTUAL

### 3.1 Epidemiología del cáncer de mama

El cáncer de mama es una neoplasia heterogénea a nivel morfológico y molecular, su desarrollo ha sido asociado con factores de riesgo como la edad, la herencia y el estilo de vida (Cuevas & García, 2006; Ban & Godellas, 2014). Alrededor del mundo presenta los mayores índices de incidencia y mortalidad por cáncer, especialmente entre la población femenina (Harbeck et al., 2019). En las últimas décadas se ha evidenciado un incremento significativo de casos, posiblemente relacionados con la implementación efectiva de pruebas de tamizaje como la mamografía (Ban & Godellas, 2014; Di Sibio et al., 2016), que han permitido diagnósticos en etapas tempranas de la enfermedad.

Para el año 2018, Globocan reportó a nivel mundial cerca de 2.1 millones de casos nuevos y 626.679 muertes relacionadas con la enfermedad, cifras que aumentaron significativamente, respecto a los reportes realizados para el año 2012, donde se registraron 1.7 millones de nuevos casos y 522.000 muertes. Las regiones con mayor incidencia de cáncer de mama en el mundo son Australia, Norteamérica y Europa, mientras que estas cifras son menores en África y Asia.

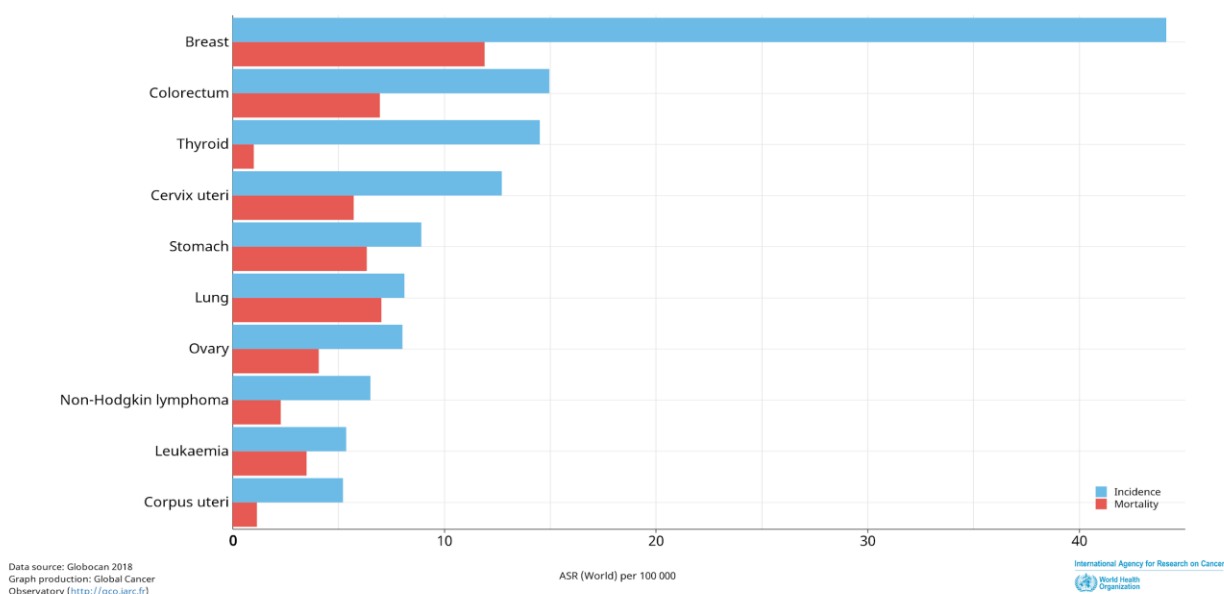
Con respecto a la mortalidad las mayores tasas se han reportado en países africanos, del Caribe, y especialmente en regiones de Oceanía como Melanesia y Polinesia y las menores en Nueva Zelanda/Australia, Norte de Europa y América del Norte a pesar de ser las regiones con las mayores tasas de incidencia (Bray et al., 2018) (Figura 1). Las diferencias en las tasas de mortalidad entre las regiones del mundo pueden estar explicadas en parte por el nivel socio económico, ya que, en regiones con elevados índices de pobreza y bajos niveles de educación, es menor el acceso a pruebas de tamizaje y tratamientos después del diagnóstico (Sprague et al., 2011).



**Figura 1.** Tasas de incidencia y mortalidad a nivel mundial-International Agency for Research on Cancer 2018 (Globocan, 2018)

En Colombia, según las cifras de Globocan en el 2018 se reportaron 13380 casos nuevos de cáncer mama y 3702 muertes asociadas a la enfermedad, ocupando así, el primer lugar en incidencia y mortalidad por cáncer en mujeres en nuestro país (Figura 2). La tasa de incidencia ha ido incrementando en los últimos años, entre el 2007 y 2011, la tasa de incidencia ajustada por edad fue de 33,5 casos por cada 100,000 habitantes (Pardo & Cendales, 2015) mientras que para el año 2018 fue de 44,1 por cada 100.000 individuos. (Globocan, 2018). Las mayores tasas de incidencia ajustadas por edad para el país se registraron para Valle del Cauca (43,5), Atlántico (42,8) y San Andrés (41,9) (Pardo & Cendales, 2015). Sin embargo, se presume que los casos que suceden al interior de zonas rurales y grupos étnicos no son registrados y por lo tanto no son tenidos en cuenta dentro de los datos oficiales (INC, 2012). En cuanto a la mortalidad, se ha reportado una mayor razón estandarizada por mortalidad para los departamentos del Atlántico, Quindío, Valle del Cauca, Arauca y Risaralda; y así mismo, un mayor riesgo de mortalidad en la región Andina, y algunos puntos en las regiones Caribe y Orinoquia como Barranquilla, Santa Marta, Bucaramanga y San Andrés y Providencia, lo que demuestra que existe un incremento del riesgo de mortalidad en poblaciones de raza negra (INC, 2017; Pardo & Cendales, 2015).

Estimated age-standardized incidence and mortality rates (World) in 2018, Colombia, females, all ages



**Figura 2.** Tasas de incidencia y mortalidad de cáncer en mujeres Colombia-International Agency for Research on Cancer 2018 (Globocan, 2018)

### 3.2 Factores de riesgo en cáncer de mama

El cáncer de mama es una enfermedad multifactorial en donde interactúan factores genéticos, ambientales y estilos de vida (Feng et al., 2018). Los factores de riesgo descritos para cáncer de mama se clasifican en modificables y no modificables. Los modificables son todos aquellos relacionados con estilos de vida, como, por ejemplo, una alimentación rica en grasas, poca actividad física (Shin et al., 2010), obesidad (Engin, 2017), consumo de alcohol (Chen et al., 2011), uso de anticonceptivos por largos periodos de tiempo (Morch et al., 2017) y nuliparidad (Thakur et al., 2017; Husby et al., 2018). Sin embargo, se han documentado factores que tienen un efecto protector en las mujeres, como el embarazo y la lactancia antes de los 30 años, probablemente por los cambios fisiológicos que ocurren durante este periodo en el tejido mamario (Husby et al., 2018).

Al mismo tiempo los factores de riesgo no modificables están relacionados con tener una edad superior a los 50 años, haber presentado una menarquia temprana o una menopausia tardía. En relación a la raza, las mujeres afroamericanas tienen menores tasas en comparación con las mujeres blancas americanas, pero tienen una mayor mortalidad y peor pronóstico, lo que puede estar asociado con que las mujeres afroamericanas suelen presentar características clínico-patológicas desfavorables como por ejemplo el compromiso de ganglios, la metástasis y el desarrollo de tumores con receptores hormonales negativos (Carey et al., 2006; Daly et al., 2015; Vogel, 2018). Por último, dentro de los factores genéticos, destacan las mutaciones en los genes supresores de tumor *BRCA1* y

*BRCA2* asociados frecuentemente a casos de cáncer de mamá hereditario; y enfermedades con mutaciones genéticas que pueden incrementar el riesgo de padecer cáncer de mama, como los síndromes de Li Fraumeni (*TP53*), Cowden (*PTEN*), Lynch (*MLH1*) y Peutz-Jeghers (*STK11*) (Paluch-Shimon et al., 2016 ; Larsen et al., 2014).

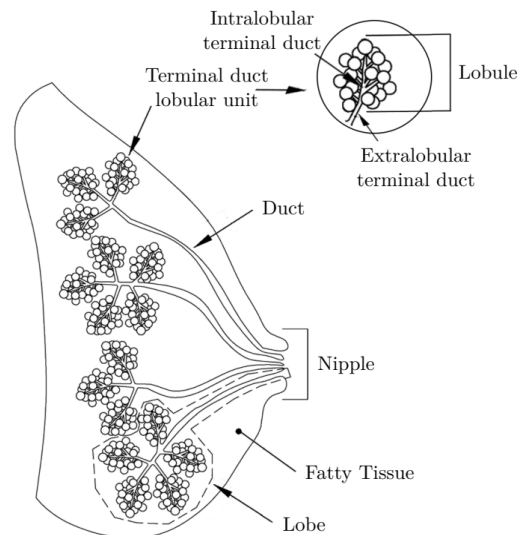
### 3.3 Anatomía y desarrollo del tejido mamario

Anatómicamente el seno se compone de la piel externa, fascia superficial y parénquima de la mamá, éste último engloba al tejido glandular, el estroma fibroso, tejido adiposo y estructuras de soporte (McGuire, 2016)

El tejido glandular o epitelio glandular en una mujer adulta tiene aproximadamente de 15 a 20 lóbulos, cada uno de ellos está compuesto por un ducto y lobulillos que albergan a los acinos, siendo éstos las glándulas productoras de leche (McGuire, 2016). Existen diferentes tipos de lóbulos, el tipo 1 presente en la pubertad, compuesto por un grupo de aproximadamente 11

brotos alveolares, el tipo 2 de una mujer adulta nulípara, y un tipo 3 presente en el embarazo, con una gran cantidad de acinos, que se convertirán en alveolos (McGuire, 2016).

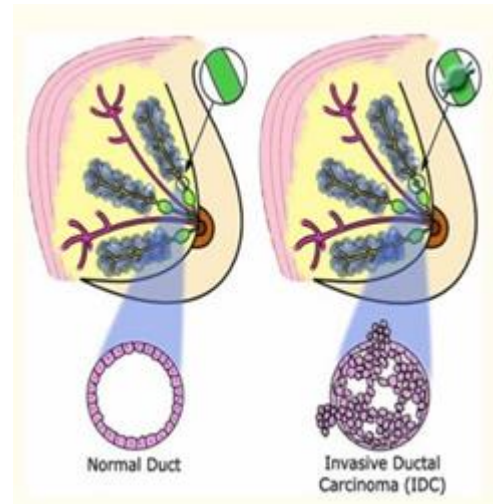
El desarrollo y diferenciación de la glándula mamaria se presenta al iniciar la pubertad, momento en el que hay mayor biodisponibilidad de hormonas como el estrógeno y la progesterona (McGuire, 2016). En el seno, los estrógenos junto con el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF1) apoyan el crecimiento y ramificación ductal; la progesterona permite el desarrollo lobulillar, especialmente durante el embarazo (Macias & Hinck, 2012; McGuire, 2016). En la mujer, la glándula mamaria continuamente tiene eventos proliferativos mediados por procesos biológicos como el ciclo menstrual y el embarazo (Macias & Hinck, 2012). La mama sufre dos procesos de involución importantes a lo largo de la vida que implican disminución de tamaño y capacidad funcional, el primero relacionado al destete después de lactancia mediado por procesos apoptóticos (Macias & Hinck, 2012) y el último durante la menopausia posiblemente debido a los bajos niveles de estrógenos (Henson & Nsouli, 2017).



**Figura 3.** Anatomía del seno. Se detalla el complejo de ductos y lóbulos. Tomado de Mortazavi et al., 2016.

### 3.4 Clasificación histológica del cáncer de mama

Existen dos categorías principales en las que se han clasificado los tumores mamarios de acuerdo a su histología y ubicación: carcinoma in situ y carcinoma invasivo o infiltrante. El primero corresponde a un tumor que solo se encuentra presente en el lóbulo o ducto sin invadir el tejido mamario, contrario al carcinoma infiltrante, donde las células cancerígenas atraviesan la membrana basal y llegan a dicho tejido, en este punto tienen la capacidad de hacer metástasis, propagándose a otras partes del cuerpo (Sharma et al., 2010; McGuire, 2016). El cáncer de mama in situ se divide en: carcinoma lobular in situ (LCIS), menos frecuente y desarrollado dentro de las glándulas de leche o lóbulos; y carcinoma ductal in situ (DCIS), siendo el más común dentro de los in situ (83%), limitado a los ductos lactíferos de la mama (Sharma et al., 2010, Ward et al., 2015). Éste a su vez de acuerdo a las características morfológicas de sus células se ha subdividido en carcinoma micropapilar, papilar, sólido, comedo y cribiforme (Malhotra et al., 2010).



**Figura 4.** Comparación de un ducto normal con un carcinoma ductal invasivo (IDC) Tomado de Sharma et al. 2010

El cáncer de mama invasivo o infiltrante se clasifica en: carcinoma ductal invasivo (IDC), representa aproximadamente el 70% a 80% de casos (Corben et al, 2013), seguido del carcinoma lobular infiltrante (ILC), que se presenta entre el 10% a 15% de los casos (Sledge et al., 2016). Existen otros tipos de carcinomas invasivos menos frecuentes, que ocurren entre el 1% a 7% de los casos, como el de tipo tubular, ductal lobular, mucinoso y medular (Malhotra et al., 2010, Linda et al., 2010).

Por otra parte, se han reportado otros tipos de cáncer de mama que son menos frecuentes, representando apenas el 1% de los casos totales, entre ellos se encuentran: el cáncer inflamatorio, la enfermedad del pezón de Paget y los tumores filoides (Sharma et al., 2010).

### 3.5 Marcadores de clasificación de subtipos de cáncer de mama (ER, PR, HER2, Ki67)

En el año 2000, Perou y colaboradores, partiendo de un análisis de expresión génica en tumores con cáncer de mama, consolidaron la clasificación de esta enfermedad en subtipos moleculares (Luminales (A y B), HER2-Enriquecido, Basal y normal). Esta clasificación, reconoció la heterogeneidad de este cáncer, además, de evidenciar que cada una de estas

entidades presentaban características biológicas y de pronóstico diferente (Sorlie et al., 2001: 2003).

Estos avances en términos moleculares han permitido tener una visión más clara sobre el comportamiento de la enfermedad. Sin embargo, la inclusión de estas pruebas conlleva un alto costo, de manera que no son de rutina en la práctica clínica (Cheang et al., 2009; Abubakar et al., 2019). Otras alternativas, menos costosas y efectivas, como el uso de sustitutos basados en pruebas inmunohistoquímicas, han tomado importancia y en la actualidad permiten hacer aproximaciones a los subtipos moleculares bajo los lineamientos propuestos por el panel de expertos St. Gallen (Goldhirsch et al., 2011), influyendo así, en la toma de decisiones terapéuticas de los pacientes (Walter et al., 2020).

Los marcadores de inmunohistoquímica que usualmente son empleados para la asignación de los casos a subtipos intrínsecos son: Receptor de estrógenos (RE), Receptor de progesterona (RP), factor 2 de crecimiento epidérmico (HER2) y Ki67. A continuación se presenta una breve descripción sobre ellos.

### **3.5.1 Receptor Estrógeno (RE)**

El RE es un factor de transcripción nuclear, que se activa mediante la unión al estrógeno, con el fin de regular la supervivencia y proliferación celular al interior del tejido glandular mamario (Gown, 2008; Korach et al., 2019). Los RE encontrados a nivel celular son principalmente 3, uno de ellos es un receptor de estrógeno de membrana (GPER 1) y los dos restantes, son receptores de estrógeno nucleares (ER $\alpha$  y ER $\beta$ ) (Fuentes & Silveyra, 2019).

El RE tiene dos vías de acción, la vía genómica y la vía no genómica. En la vía genómica RE activa la expresión génica de genes como *c-MYC* y la *Ciclina D1* (Hewitt & Korach, 2018), uniéndose directamente al ADN por medio de los elementos de respuesta al estrógeno (ERE) (Cilbir & Yalcin, 2019) o interactuando de manera indirecta con el ADN por medio de factores de transcripción como Ap1 y Sp1 (Hewitt & Korach, 2018; Fuentes & Silveyra, 2019).

En la vía no genómica actúa principalmente GPER1 (Hewitt & Korach, 2018), allí, mediante señalización intracelular se activan factores de transcripción como el factor de crecimiento epidérmico, el factor de crecimiento similar a la insulina 1R, la quinasa Src, la proteína adaptadora Shc y el fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K) que participan en la expresión de genes que se relacionan con la proliferación celular. (Cilbir & Yalcin, 2019).

La expresión del receptor de estrógeno *alpha* (ER $\alpha$ ) se ha descrito en más del 70% de los cánceres de mama y su evaluación ha permitido establecer la sensibilidad de los pacientes a terapia endocrina con antagonistas del estrógeno como el tamoxifeno, de manera que se le ha catalogado como un fuerte marcador predictivo (Ross et al., 2019). A su vez, la Sociedad Estadounidense de Oncología Clínica y el Colegio de Patólogos Americanos han establecido los lineamientos para evaluar la expresión de RE, donde este marcador se establece positivo cuando más del 1% de las células lo expresan. Estas recomendaciones han contribuido a su inclusión en la práctica clínica (Allison et al., 2020).

### **3.5.2 Receptor de Progesterona (RP)**

Al igual que el RE, el RP también se encuentra involucrado en el desarrollo del tejido mamario, inicialmente en la ramificación lateral ductal y posteriormente en el embarazo, en el desarrollo lobuloadveolar (Briskin, 2013).

Dentro de los RP, se encuentran algunas isoformas, las más comunes son RP-A y RP-B, siendo RP-B quien lleva a cabo la proliferación celular de la glándula mamaria durante el embarazo (Cenciarini et al., 2019; Cilbir & Yalcin, 2019; Trabert et al., 2019).

El RP al igual que el RE, tiene dos vías de acción, la vía genómica y la vía no genómica. La vía genómica se divide en un mecanismo clásico y un mecanismo no clásico. El mecanismo clásico se caracteriza por presentar unión directa del RP al ADN, por medio de los elementos de respuesta a la progesterona (ERP) que se encuentran cercanos a genes blanco para su expresión (Cenciarini et al., 2019; Trabert et al., 2019). En el mecanismo no clásico, el RP puede unirse a factores de transcripción como Ap-1, Sp1 y Stat3, de esta manera activar la expresión de genes que carecen de ERP y que son de importancia para el progreso del ciclo celular como la *Ciclina D1* (Cenciarini et al., 2019). La otra acción de RP reside en la vía no genómica, caracterizada por la activación de señalización intracelular que desencadena la activación de rutas para el crecimiento y mantenimiento celular como RAS/MAPK y PI3K/Akt (Cenciarini et al., 2019). Además de ello, se ha descrito un mecanismo paracrino que induce la proliferación celular en células RP negativas a partir de la activación del sistema RANKL-RANK por parte de células RP positivas no proliferativas (Grimm et al., 2016; Trabert et al., 2019).

La evaluación de este marcador en cáncer de mama, sigue los lineamientos propuestos por la Sociedad Estadounidense de Oncología Clínica y el Colegio de Patólogos Americanos, considerándose positivo bajo el mismo parámetro que RE, cuando más del 1% de las células presenta tinción (Allison et al., 2020).

La expresión conjunta del RE con el RP indica qué pacientes pueden beneficiarse de la terapia endocrina (Cilbir & Yalcin, 2019; Dembinski et al., 2020). Como marcador pronóstico se ha documentado que tumores RE+/RP+ tienen una mejor supervivencia libre de enfermedad en comparación con tumores RE+/RP- , sin embargo, esta afirmación es aún controvertida (Dembinski et al., 2020). Estudios adicionales mencionan que el valor pronóstico de RP debe evaluarse en conjunto con el índice de proliferación celular (Van Asten et al., 2019).

### 3.5.3 HER2

El receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano es codificado por el proto-oncogen *Her2/neu* o *ErbB2* ubicado en el cromosoma 17 (17q12-21). Es una glicoproteína transmembrana que hace parte de la familia de receptores tirosin quinasa del factor de crecimiento epidermal (EGFR) constituida por: HER1, HER2, HER3 y HER4 , que contribuyen al crecimiento, diferenciación y supervivencia celular. (Chang et al., 2012; Iqbal et al., 2014)

Hasta el momento HER2 no tiene un ligando conocido (Fasolo & Gianni, 2016), pero se presume puede activarse por medio de la heterodimerización con otros receptores tirosin quinasa de su familia EGFR (Appert-Collin et al., 2015; Iqbal et al., 2014) y así activar vías de señalización intracelular involucradas en la proliferación y supervivencia celular como PI3K / AKT y Ras / Raf / MEK / MAPK, (Carnero & Paramio, 2014; Hou et al., 2020)

HER2 se sobreexpresa y/o amplifica entre el 15 y el 20% de casos de cáncer de mama (Wolff et al., 2018; Fasolo & Gianni, 2016) y esta amplificación se ha relacionado con un comportamiento más agresivo de la enfermedad, como bajas tasas de supervivencia global y supervivencia libre de metástasis (Sanpaolo et al., 2011) alto riesgo de recurrencia, alto grado tumoral, metástasis en ganglios linfáticos, mayor porcentaje de expresión Ki67 y resistencia a la terapia endocrina (Engels et al., 2016; Hou et al., 2020).

Por otro lado, existe particular interés en HER2 por ser objeto dentro del desarrollo de terapias blanco-dirigidas, en las que destaca el uso de Trastuzumab (Herceptin), que ha mostrado buenos resultados tanto en los casos ER+/HER2+ como ER-/HER2+; y en combinación con diferentes tratamientos en regímenes de adyuvancia y neoadyuvancia (Rimawi et al., 2015). De acuerdo a lo anteriormente mencionado, la evaluación de HER2 dentro de la rutina clínica cobra relevancia por la información que puede dar acerca de la respuesta a tratamientos y del pronóstico de la enfermedad.

Dicha evaluación se realiza bajo las recomendaciones de la Sociedad Estadounidense de Oncólogos Clínicos (ASCO) y del Colegio de Patólogos Americanos (CAP), donde son



establecidos los criterios para la evaluación de este marcador por pruebas de inmunohistoquímica considerándose un resultado negativo cuando no se presenta tinción ó esta es débil o incompleta en > 10% de las células, positivo cuando en > 10% de la células tumorales se presenta una tinción completa e intensa y equívoco cuando la tinción es moderada y/o débil en > 10% de las células; en éste último caso se recomienda realizar una prueba adicional evaluando la amplificación del gen por técnicas de hibridación in situ fluorescente (FISH) para esclarecer el resultado (Wolff et al., 2018). Ésta es una prueba que determina el número de copias del gen *HER2* haciendo uso de sondas marcadas con fluorescencia que se unen a regiones específicas del ADN (Sauter et al., 2009).

### **3.5.4 Índice de proliferación celular Ki67**

Ki67 es una proteína humana de expresión nuclear codificada por el gen *MKI67* ubicado en el cromosoma 10 en la región q25. Desde los años 80 se le ha reconocido como un marcador que evalúa la proliferación celular, debido a que evidencias experimentales demostraron su expresión durante el ciclo celular tanto en células normales como en tumorales (Scholzen & Gerdes, 2000; Miller et al., 2018). Esta proteína está principalmente expresada en las fases activas del ciclo como lo son G1, S, G2 y M, alcanzando su punto máximo de expresión en la fase M y siendo baja o inexistente en G0 (Miller et al., 2018). De acuerdo a ello, se ha sugerido como biomarcador y se ha incluido como sustituto inmunohistoquímico en cáncer de mama (Goldhirsch et al., 2013).

En el entorno clínico, la evaluación de Ki67 para cáncer de mama, se realiza bajo técnicas inmunohistoquímicas, haciendo uso de anticuerpos monoclonales como como MIB-1 u otros (MM-1, Ki-S5 y SP6), que se unen al antígeno Ki67 principalmente en el núcleo (Penault & Radosevic, 2017; Viale et al., 2019). Como marcador predictivo, Ki67, ha permitido predecir la probabilidad de respuesta de los pacientes a la quimioterapia (Viale et al., 2019). Como marcador pronóstico, un valor de expresión de Ki67 mayor al 20% en tumores de mama, se ha relacionado con una menor supervivencia libre de enfermedad (Arma et al., 2019), además de asociarse con un tamaño tumoral más grande y un mayor grado histológico (Fasching et al., 2019). Cabe destacar que además de ser un marcador pronóstico y predictivo, en la actualidad, su análisis permite la clasificación de los tumores luminales en luminal A y luminal B, siendo este último el que presenta un mayor porcentaje de expresión Ki67 (Goldhirsch et al., 2013; Prat et al., 2015).

### 3.6 Variables clínico-patológicas

Las variables clínico-patológicas incluyen las características descritas en la revisión clínica del paciente, a partir del examen físico, técnicas de diagnóstico por imagen y estudios histológicos e inmunohistoquímicos del tumor (Fernández, 2015). Dentro de estas variables se encuentran principalmente, tamaño tumoral, compromiso ganglionar, grado histológico, invasión y estado de receptores hormonales (RE, RP), HER2 y Ki67 (Arciero et al., 2018).

En la práctica clínica, estos factores anatomo-patológicos, permiten una clasificación del cáncer de mama de acuerdo a la etapa clínica de la neoplasia, con el fin de predecir el mejor enfoque terapéutico y el posible pronóstico del paciente (Kim et al., 2018; Giuliano et al., 2018). Generalmente, esta clasificación se realiza bajo el sistema de estadificación TNM (tumor [T], ganglios linfáticos [N], metástasis [M]), propuesto por el Comité Conjunto Americano del Cáncer (AJCC) (Giuliano et al., 2018).

Cada una de estas variables aportan a la predicción pronóstica del cáncer de mama. En la literatura se ha descrito que el tamaño tumoral, la cantidad de ganglios linfáticos afectados, la metástasis, el grado histológico y la invasión tumoral, juegan un papel determinante en la malignidad y agresividad de la enfermedad, asociada a una mayor posibilidad de recurrencia y menor supervivencia específica o libre de enfermedad (Arciero et al., 2018; Gluz et al., 2016; Mook et al., 2009; Singh et al., 2016). Dentro de estas características, la más relevante ha sido el compromiso ganglionar, donde a mayor número de ganglios afectados, peor es el pronóstico del paciente, incluso, independientemente del tamaño tumoral (Arciero et al., 2018). La segunda, pero no menos importante, es el tamaño del tumor, sin embargo, su pronóstico se ve influenciado por el compromiso ganglionar (Kasangian et al., 2017; Welch et al., 2016). Por otro lado, se encuentran el grado histológico y la invasión linfovascular que, aunque no son determinantes consistentes de mal pronóstico, las dos influyen en él, en especial la invasión linfovascular que se relaciona fuertemente con el desarrollo de metástasis ganglionar (Rakha et al., 2008; 2012).

Aunque la evaluación de estas variables clínico-patológicas ha sido rutinaria en la práctica clínica, los avances actuales a nivel molecular han aportado significativamente en la comprensión biológica de la enfermedad y en la decisión sobre el tratamiento a emplear, siendo en la mayoría de los casos, el aspecto más relevante a tener en cuenta (Braunstein et al., 2017; Kasangian et al., 2017, AJCC, 2017). En la actualidad, en cáncer de mama, se ha investigado la relación que existe entre la expresión de genes, proteínas, receptores y subtipos intrínsecos o moleculares específicos y las variables clínico-patológicas (Aman et al., 2019; Cusati et al., 2014; Ramsey et al., 2011; Qiu et al., 2016).

### 3.7 Subtipos moleculares del cáncer de mama

Perou y colaboradores en el año 2000 basados en pruebas de perfiles de expresión génica identificaron diferencias en la expresión de determinados genes entre tumores de distintos pacientes; por lo que propusieron una clasificación del cáncer de mama en cuatro subtipos moleculares (Luminal A y luminal B), HER2-enriquecido, Basal y Normal-like) que al mismo tiempo se correlacionaron con las características fenotípicas de los tumores y su pronóstico (Sorlie et al., 2001).

Aquellos tumores con expresión de genes relacionados al receptor de estrógeno y células luminales como citoqueratina 8/18 (CK 8/18), fueron agrupados en luminales, que a su vez se subdividen en los subtipos luminal A y luminal B, mientras que en los tumores RE negativos se incluyeron al subtipo HER2- enriquecido, basal, y normal.

#### 3.7.1 Luminal A

El subtipo luminal A corresponde aproximadamente al 30% a 40% de los casos sin embargo, se ha visto que estos porcentajes varían entre los diferentes países (Fragomeni et al, 2018; Kondov et al., 2018). Son tumores con buena diferenciación celular, poca proliferación (Ahn et al., 2015, Hashmi et al., 2018), bajas tasas de recurrencia y mayores tiempos de supervivencia global comparado con los otros subtipos (Haque et al., 2012; Liu et al., 2015).

En relación a sus características moleculares, presenta menos mutaciones en genes de proliferación en comparación con el subtipo luminal B (Gatza et al., 2014). Tiene mutaciones en genes como *PIK3CA*, *MAP3K1*, *GATA3*, *TP53*, *CDH1* y *MAP2K4*, (Cancer Genome Atlas, 2012), alteraciones en las cascadas de señalización PI3K/AKT MAP-quinasas y RAS, y aberraciones en los cromosomas 1, 8 y 16. A su vez, éste grupo ha sido subclasificado de acuerdo a patrones genéticos en cuatro subtipos de luminal A (CNA silencioso, 1q/16q, Chr 8 y CNA alto), evidenciando la amplia heterogeneidad de éstos tumores tanto a nivel molecular como en el desarrollo clínico de la enfermedad (Ciriello et al., 2013). Por otro lado, en lo que se refiere al tratamiento, suelen beneficiarse de terapia hormonal basada en tamoxifeno (regulador selectivo del receptor de estrógeno), fulvestrant (regulador del receptor de estrógeno) y Letrozol (inhibidor de aromatasas) (Lumachi et al., 2013, Rocca et al., 2018, Prat et al., 2016).

#### 3.7.2 Luminal B

El subtipo luminal B, es una entidad diversa dentro de los subtipos luminales (Choi et al., 2019). A diferencia del subtipo luminal A, los tumores luminal B, tienden a mostrar una baja

expresión del receptor de progesterona y genes como *FOXA1* (Prat et al., 2015) y una mayor expresión de genes relacionados con proliferación celular, como *MKI67*, *CCNB1*, *MYBL2* y *CCND1* (Ades et al., 2014; Cancer Genome Atlas, 2012; Prat et al., 2015), además de una pérdida funcional de *RB1* (Cancer Genome Atlas, 2012).

En los tumores luminal B se han reportado un mayor número de mutaciones asociadas a los genes *FOXO3*, *PI3KCA* y *TP53* (Cornen et al., 2014), siendo *TP53* el gen con mayor porcentaje de mutación en comparación con el subtipo luminal A (Cancer Genome Atlas, 2012). Previamente, este subtipo se ha caracterizado por presentar cambios drásticos en el número de copias de ADN y un mayor número de aberraciones cromosómicas (Prat et al., 2015). Además, se ha evidenciado que una parte de los tumores luminal B expresan HER2 (Cheang et al., 2009; Choi et al., 2019; Prat et al., 2015), mostrando un pronóstico más agresivo de la enfermedad (Choi et al., 2019). El subtipo luminal B, se ha asociado con un alto grado histológico, un tamaño tumoral más grande, presencia de metástasis ganglionar y recurrencia temprana en los pacientes (Choi et al., 2019; Ding et al., 2019; Hashmi et al., 2018). Respecto a la elección terapéutica, la primera opción es la terapia endocrina, no obstante, en algunos casos se ha informado poca sensibilidad o resistencia a estro, lo que ha sugerido la inclusión de la quimioterapia citotóxica en los esquemas de tratamiento (Ades et al., 2014; Choi et al., 2019; Ding et al., 2019; Kondov et al., 2018; Matsunuma 2020).

### **3.7.3 HER2-Enriquecido**

El subtipo HER2-enriquecido se observa en el 15% a 20% de los casos (Krishnamurti & Silverman, 2014). Este tipo de tumores están asociados a un pronóstico desfavorable dada su poca diferenciación histológica, alta proliferación celular y una rápida progresión de la enfermedad (Burstein et al., 2005; Sareyeldin et al., 2019); además de altas tasas de recurrencia después de la cirugía y tiempos de supervivencia global más cortos (Park et al., 2012). A nivel molecular, se caracterizan por sobreexpresar y/o amplificar *HER2* (Cancer Genome Atlas, 2012) y presentar una alta expresión de genes relacionados al amplicón de *ERBB2*, como *GBR7* (Perou et al, 2000, Sorlie et al., 2001). También presentan frecuentes mutaciones en *TP53* (72%) y *PIK3CA* (39%), y poca expresión de genes luminales (Cancer Genome Atlas, 2012, Darb-Esfahani et al., 2016).

Aunque son tumores agresivos, el tratamiento con terapias anti-HER2 como trastuzumab, pertuzumab, T-DM1, entre otros, mejoran considerablemente su pronóstico, aumentando el tiempo de supervivencia global tanto en pacientes con metástasis como en aquellos que se encuentran en estadios tempranos (Mendes et al., 2015; Schettini et al., 2020). También pueden beneficiarse de regímenes combinados con quimioterapia citotóxica de taxanos,

antraciclinas, y carboplatinos (Mendes et al., 2015, Dai et al, 2015, Díaz-Redondo et al, 2019). En la actualidad se han empezado a tener en cuenta los linfocitos infiltrantes de tumor y las mutaciones en PIK3CA como biomarcadores dentro del diseño de ensayos clínicos con el fin de obtener mejores resultados y beneficios para el paciente (Schettini et al., 2020).

#### **3.7.4 Basal**

El subtipo basal representa entre el 10% y el 25% del total de los casos en cáncer de mama (Perou, 2011; Jiang et al, 2019). Se reconocen con el equivalente de tumores triple negativos (RE(-), RP(-) y HER2 (-)) (Jiang et al., 2019; Perou, 2011), sin embargo solo entre el 50% y el 75% de estos, son basales (Dai et al., 2015; Kumar & Aggarwal, 2016). Los tumores basales se caracterizan por expresar un mayor número de genes relacionados con proliferación celular y genes vinculados con células de la capa mioepitelial como las citoqueratinas basales (CK5, CK6, CK14, CK17), caveolina-1,  $\alpha$ B-cristalina, P-cadherina y c-KIT (Cancer genome atlas, 2012; Perou, 2011, Prat et al., 2015); además de presentar mutaciones frecuentes en los genes *TP53*, *PTEN* y *RB1* (Prat et al., 2015; Cancer genome atlas, 2012; Jiang et al., 2019).

Es diagnosticado en su mayoría en pacientes jóvenes, afrodescendientes y portadoras de las mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* (Carey et al., 2006; Schneider et al., 2008), mostrando un perfil agresivo de la enfermedad, relacionado con un alto índice de proliferación celular, gran tamaño tumoral, alto grado histológico, mayor compromiso ganglionar y recurrencia temprana (Jiang et al., 2019). En relación al tratamiento clínico, se ha documentado como un subtipo sin un blanco molecular establecido, por lo que los pacientes suelen ser tratados con quimioterapia citotóxica (Kumar & Aggarwal, 2016), no obstante, se han venido documentando nuevos enfoques terapéuticos, que incluyen: inhibición de la poli ADP-ribosa polimerasa (PARP) y EGFR, e inmunoterapia (Lyons & Triana, 2019; Perou, 2011). En la actualidad, dentro de los basales, se ha descrito un nuevo subtipo denominado Claudin low (Perou, 2011) y otras 6 entidades diferentes dentro de los tumores TN, lo que concluye que el subtipo basal es altamente complejo y heterogéneo (Lehmann et al., 2011; Sporikova et al., 2018) .

#### **3.7.5 Normal-like**

Los tumores de mama denominados como normales representan entre un 5% y 10% del total de los casos de cáncer de mama (Eroles et al., 2012). Han sido incluidos dentro del subtipo triple negativo, debido a que estas neoplasias no resultan positivas para receptores hormonales (RE/RP) y HER2; sin considerarse basales, debido a su carente expresión de

citoqueratinas (5/6) y EGFR (Nofech-Mozes et al. 2009). Estudios como el de Calza et al. (2006), han documentado que resultan ser tumores pequeños.

Sorlie y colaboradores (2001), mencionan que existe una expresión de genes relacionados con el tejido adiposo y otros tipos de células no epiteliales, presentando además baja expresión de genes relacionados con el epitelio luminal (Perou et al., 2000).

Respecto a su pronóstico, se cree que es mejor en comparación con los tumores basales y similar al de los subtipos luminales. Sin embargo, existen disparidades, ya que se comenta que este subtipo no se encuentra bien tipificado y que probablemente se presenta por contaminación de células no-tumorales en las muestras (Eroles et al., 2012).

### **3.8 Co-expresión GRB7 y HER2**

Las proteínas GRB7 y HER2 son codificadas por los genes *GRB7* y *ERBB2* respectivamente. Estos genes están localizados en el amplicón *ERBB2*, en el locus 17q12-q21, de ahí que estas proteínas suelen encontrarse co-expresadas (Evans, 2006). HER2 es un receptor transmembranal asociado a la activación de vías de señalización involucradas en el crecimiento, proliferación, supervivencia y migración celular (McCann & Slamon, 2018). Mientras que GRB7 o también conocida como proteína 7 ligada al receptor del factor de crecimiento, está relacionada con procesos de angiogénesis, migración y proliferación celular (Han et al., 2001; Shen & Guan, 2004, Fernández et al., 2008; Luoh, 2019). Se ha observado que esta proteína puede estar expresada o co-expresada con HER2 en carcinomas de mama, esofágo, gástrico, y cervical, favoreciendo la inhibición de apoptosis celular y la capacidad invasiva del tumor (Tanaka et al., 2000; Kwon et al., 2017; Zhao et al., 2017).

Ahora bien, en el caso particular del cáncer de mama, esta co-expresión está asociada a un peor pronóstico que cuando solo se encuentra expresado HER2 (Nadler et al., 2010, Bivin et al, 2016) situación que puede estar relacionada con la participación sinérgica de ambas proteínas en la formación del tumor (Bai & Luoh, 2007), y con que GRB7 por medio de su dominio SH puede regular la señalización de HER2 corriente abajo, favoreciendo la activación de rutas de proliferación y supervivencia celular (Nencioni et al., 2010; De Pradip et al, 2013; Luoh, 2019). A nivel clínico, también se ha observado que GRB7 puede estar asociado con la resistencia que desarrollan ciertos tumores a las terapias anti-HER y antiestrógenos (Sahlberg et al., 2013; Luoh, 2019). Por ejemplo, un estudio realizado con líneas celulares y xenotrasplantes demostró que una forma de adaptación celular frente a la administración de lapatinib, inhibidor de HER2, fue generar un incremento de GRB7, resultando así en un rápido progreso de la enfermedad y a su vez, mostrando la estrecha relación que existe entre estas dos proteínas (Nencioni et al., 2010).

## 5. METODOLOGÍA

### 4.1 Diseño del estudio

El presente trabajo está enmarcado bajo el proyecto titulado “*Ancestría genética como un potencial modulador de la expresión de los genes ERBB2/GBR7/MIEN1 en pacientes colombianas con cáncer de mama*” (2018-2020), realizado en el Grupo de Investigación de biología del cáncer del Instituto Nacional de Cancerología E.S.E., Bogotá, Colombia; a cargo de María Carolina Sanabria y Silvia Juliana Serrano Gómez.

Este es un estudio retrospectivo que incluyó 361 pacientes con diagnóstico confirmado de cáncer de mama invasivo entre los años 2013 y 2015 en el INC E.S.E. Las pacientes incluidas cumplieron con los siguientes criterios de inclusión: 1) Diagnóstico histológico confirmado de cáncer primario de mama invasivo; 2) Disponibilidad de bloques de parafina y láminas histológicas del tumor obtenidos en cirugías (cuadrantectomía o mastectomía), 3) Presencia de al menos el 10% de contenido tumoral invasivo.

Los casos que cumplieron inicialmente con los criterios de inclusión fueron revisados por el médico patólogo, quien confirmó el diagnóstico histopatológico y seleccionó dos bloques, los que contuvieran el mayor contenido tumoral.

### 4.2 Evaluación de receptores hormonales (RE, RP) y HER2

La evaluación de RE, RP, HER2, Ki67, y GRB7 fue realizada por técnicas de inmunohistoquímica en el laboratorio de patología del INC E.S.E. Estos resultados fueron utilizados para clasificar los casos en subtipos intrínsecos, teniendo en cuenta los lineamientos establecidos por el panel de expertos de St. gallen en el año 2015 (Esposito et al., 2015; Gnant et al., 2015), como se observa en la tabla 1.

SUBTIPO INTRINSECO	SUSTITUTOS CLÍNICO PATÓLOGICOS
<b>Luminal A</b>	Todos los siguientes Positivo RE Positivo RP ( $\geq 20\%$ ) Baja expresión de Ki67 ( $< 20\%$ )
<b>Luminal B</b>	<b>Luminal B (HER2-Negativo)</b> Positivo RE HER2 negativo <u>Al menos una de las siguientes:</u> Positivo RP ( $< 20\%$ ) Alta expresión de Ki67 ( $\geq 20\%$ )

	<b>Luminal B (HER2-Positivo)</b> Positivo RE HER2 sobre-expresado o amplificado Cualquier expresión de RP Cualquier expresión de Ki67
<b>HER2-Enriquecido</b>	HER2 sobre-expresado o amplificado RE y RP negativos
<b>Basal-like</b>	HER2 negativo RE y RP negativos

**Tabla 1.** Clasificación subtipos intrínsecos según el consenso de St. Gallen (2015)

La expresión del receptor de estrógeno y progesterona se consideraron positivos cuando al menos el 1% de las células presentó tinción nuclear y citoplasmática. HER2 se evaluó bajo las recomendaciones de las Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) y el Colegio de patólogos americanos (CAP) (Wolff et al., 2018), descritas en la tabla 2. Para los casos HER2, con resultado equívoco, se buscó en su historia clínica si se reportaron resultados adicionales analizados por otras técnicas como, por ejemplo, FISH, para evaluar la amplificación del gen *ERBB2*.

HER2	TINCIÓN DE MEMBRANA	PUNTAJE
<b>POSITIVO</b>	Completa e intensa en más del 10% de las células	3+
<b>EQUIVOCO</b>	Débil a moderada en más del 10% de las células	2+
<b>NEGATIVO</b>	Incompleta y débil para más del 10% de las células	1+
	Ausente o débil en menos del 10% de las células	0

**Tabla 2.** Clasificación se Her2 según Sociedad Americana de Oncología Clínica y el Colegio de patólogos americanos (2018)

### 4.3 Evaluación por inmunohistoquímica de GRB7

Adicionalmente, se evaluó la expresión proteica de GRB7 con el fin de cumplir con los objetivos del estudio. Este, se consideró positivo si más del 10% de las células tumorales presentaban tinción a nivel de membrana celular y citoplasma. También, se reportó la intensidad de la marcación de la siguiente forma: 0 (negativa), 1+ (débil), 2+ (moderada), y 3+ (fuerte).

El presente trabajo titulado “Análisis de la expresión de HER2/GRB7 y su asociación con variables clínico-patológicas en un grupo de mujeres con diagnóstico de cáncer de mama invasivo” tomó la información clínico-patológica de los pacientes con tumores de los subtipos luminal B y HER2-enriquecido teniendo en cuenta los antecedentes y justificación anteriormente descrita y se planteó como objetivo encontrar diferencias en la presentación de características clínicas y patológicas de acuerdo a la expresión proteica de HER2 y GRB7. Para esto, se planteó la siguiente hipótesis:



#### 4.4 Hipótesis operativa

La co-expresión de las proteínas HER2 y GRB7 está relacionada con un comportamiento más agresivo del cáncer de mama en mujeres colombianas

#### 4.5 Evaluación de variables clínico-patológicas

Se evaluaron las diferencias en la presentación de las variables clínico-patológicas de tipo cuantitativo y cualitativo que se indican en la tabla 3, teniendo en cuenta los objetivos planteados. Las variables cualitativas como edad, tamaño tumoral y número de ganglios comprometidos, fueron categorizadas teniendo en cuenta el manual de estadificación del cáncer de mama propuesto por el Comité Conjunto Estadounidense sobre el Cáncer (AJCC), y la revisión de diferentes artículos científicos (Carter et al., 1989; Onitilo et al., 2009; Forsare et al., 2018; Bernet et al., 2017).

VARIABLES CATEGÓRICAS	
VARIABLE	CATEGORÍA
Edad	≤ 50 / > 50
Escala de Bloom Richardson	I / II / III
Estadio Clínico	I / II / III / IV
Tamaño tumoral	≤ 20mm / 21mm a 50mm / >50mm
Invasión	Si / No
Tipo de invasión	Linfática vascular / Linfática vascular dérmica / Linfática vascular perineural / Otra
Compromiso de bordes tumorales	Si / No
Compromiso de ganglios linfáticos	Si / No
Número de ganglios linfáticos comprometidos	1 a 3 / 4 a 9 / >9
Compromiso de ganglio centinela	Si / No
Estado de receptor de estrógeno	Positivo / Negativo
Estado de receptor de progesterona	Positivo / Negativo
Estado de HER2	Positivo (3+) / Negativo (0+ / 1+) / Equivoco (2+)
Estado de GRB7	Positivo / Negativo
Intensidad de GRB7	Negativa (0) / Débil (1+) / Moderada (2+) / Fuerte (3+)
Expresión de Ki67	< 20% / ≥ 20%
Subtipos intrínsecos	Luminal A / Luminal B / HER2-enriquecido / Triple negativo
Manejo Quirúrgico	Cuadrantectomía / Mastectomía
Presento recurrencia	Si / No
Tipo de recurrencia	Local / Local y sistémica / Regional / Sin recurrencia
Estado vital	Vivo / Fallecido

VARIABLES CUANTITATIVAS
Edad
Peso
Altura
Índice de masa corporal
Expresión de Ki67
Tamaño del tumor

**Tabla 3.** Definición de variables clínico-patológicas evaluadas en el estudio.

#### 4.6 Análisis estadístico

Las diferencias en la presentación de variables clínico-patológicas de acuerdo a la expresión de HER2 y la co-expresión con GRB7, fueron analizadas usando el test de independencia Chi-cuadrado de Pearson ( $\chi^2$ ) o test exacto de Fisher, según el caso. Los valores de  $p$  menores a 0,05 fueron considerados como estadísticamente significativos.

Se usó el test de Kolmogorov - Smirnov para probar si los datos de las variables cuantitativas seguían una distribución normal. Teniendo en cuenta la distribución no normal de estos datos, se emplearon las pruebas no paramétricas para muestras independientes, U Mann Whitney y Kruskal Wallis, dependiendo el caso. Un  $p$  valor de la prueba Kruskal Wallis  $< 0,05$  fue considerado estadísticamente significativo. En estos casos se realizó la prueba post-Hoc, usando el test de Dunn con la corrección de Bonferroni.

Se utilizó el método de Kaplan Meier y el test de Log rank para evaluar diferencias en la supervivencia libre de recaída de acuerdo a la expresión de GRB7 en tumores HER2 positivos. La supervivencia libre de recaída se calculó desde el año de la cirugía hasta el año de la primera recurrencia. Los tipos de recurrencia se definieron de la siguiente forma: recurrencia local cuando hay presencia de tumores en el mismo lugar donde se diagnosticó el tumor primario; recurrencia regional, tumores presentes en los ganglios linfáticos cercanos a la mama y recurrencia sistémica, definida por la presencia de tumores en otro órgano del cuerpo. Todos los análisis estadísticos se realizaron en el programa SPSS versión 25 para Windows (Chicago, IL, USA).

#### 4.7 Consideraciones éticas

Este trabajo no vincula un consentimiento informado, debido a que la investigación se basa en un estudio retrospectivo, sin riesgo, en el que se hizo una revisión de historias clínicas y el análisis de muestras biológicas ya almacenadas (2013-2015) y, no se realizó ninguna intervención sobre las pacientes.

## 6. RESULTADOS

Se incluyeron 361 casos de mujeres diagnosticadas con cáncer de mama invasivo en el Instituto Nacional de Cancerología entre el año 2013 y 2015.

La edad promedio al momento del diagnóstico fue de 59,8 años (Rango 31,7 - 89,3), predominando el grupo etario de mujeres mayores de 50 años. Con una mediana para las variables de peso, altura e índice de masa corporal (IMC) de 64 kg, 1,54 m y 26,91 kg/m<sup>2</sup> respectivamente (Tabla 4).

<b>CARACTERÍSTICAS GENERALES (n=361)</b>	<b>N (%)</b>
<b>Edad de diagnóstico</b>	
≤ 50	88 (24,4)
>50	273 (75,6)
<b>Promedio de la edad de diagnóstico</b>	59,8 ± 11,6
<b>Mediana Peso (Kg)</b>	64 ± 12
<b>Mediana altura (m)</b>	1,54 ± 0,07
<b>Mediana IMC</b>	26,91 ± 4,81

**Tabla 4.** Características generales pacientes INC

Con respecto a las características clínicas de la población, el 87,2% de esta fue diagnosticada en estadios clínicos II y III, con tumores de tamaño tumoral predominantemente entre 21 a 50 milímetros (mm) (47,1%) y una mediana de tamaño tumoral de 30 mm ± 26. La gran mayoría de los pacientes recibieron manejo quirúrgico por mastectomía (55,7%) y no presentaron recurrencias al momento de la finalización del presente estudio (67,6%). Dentro de las pacientes

que sí desarrollaron recurrencias (25,2%), la más frecuente fue la de tipo sistémico (17,5%) (Tabla 5). Al momento de la finalización de este estudio el 76,7% de los pacientes incluidos estaban vivos.

<b>VARIABLES CLÍNICAS</b>	<b>N (%)</b>
<b>Estadio Clínico</b>	
I (Ia-Ib)	40 (11,1)
II (IIa-IIb)	156 (43,2)
III (IIIa-IIIb-IIIc)	159 (44,0)
IV	6 (1,7)
<b>Tamaño Tumoral</b>	
≤ 20 mm	96 (26,6)
21-50 mm	170 (47,1)
>50mm	83 (23,0)
No hay registro	12 (3,3)
<b>Manejo Quirúrgico</b>	
Cuadrantectomía	160 (44,3)
Mastectomía	201 (55,7)
<b>Recurrencia</b>	
Si	91 (25,2)
No	244 (67,6)
No hay registro	26 (7,2)
<b>Tipo de Recurrencia</b>	
Local	11 (3,0)
Regional	12 (3,3)
Sistémica	63 (17,5)
Regional-sistémica	4 (1,1)
No Aplica	244 (67,6)
No hay registro	27 (7,5)
<b>Estado Vital</b>	
Fallecido	83 (23,0)
Vivo	277 (76,7)

No hay registro	1 (0,3)
<b>Mediana tamaño del tumor (mm)</b>	30 ± 26

**Tabla 5.** Variables clínicas pacientes INC

La totalidad de los casos incluidos fueron del tipo histológico, carcinoma ductal infiltrante. De acuerdo con el sistema de clasificación de Bloom Richardson, el grado II (53.2%) fue el más común, seguido del grado III (38.2%). 173 de los casos (47,9%) presentaron compromiso de ganglios linfáticos y el 51,1% tenía invasión tumoral, en particular de tipo linfática-vascular (39,1%) (Tabla 6).

<b>VARIABLES PATOLÓGICAS</b>	<b>N (%)</b>
<b>Escala Bloom Richardson</b>	
I	30 (8,3)
II	192 (53,2)
III	138 (38,2)
No hay dato	1 (0,3)
<b>Invasión</b>	
Si	186 (51,5)
No	139 (38,5)
No hay registro	36 (10,0)
<b>Tipo de Invasión</b>	
Linfática, vascular, dérmica	23 (6,4)
Linfática, vascular, perineural	25 (6,9)
Linfática, vascular	93 (25,8)
Otros	45 (12,5)
No aplica	139 (38,5)
No hay registro	36 (10,0)
<b>Compromiso Ganglios Linfáticos</b>	
Si	173 (47,9)
No	108 (29,9)
No aplica	79 (21,9)

No hay registro	1 (0,3)
<b>Número de Ganglios Linfáticos</b>	
1-3	79 (21,9)
4-8	60 (16,6)
>9	35 (9,7)
Sin compromiso	111 (30,7)
No hay registro	76 (21,1)
<b>Compromiso Ganglio Centinela</b>	
Si	49 (13,6)
No	71 (19,7)
No aplica	240 (66,5)
No hay registro	1 (0,3)
<b>Compromiso Bordes Tumorales</b>	
Si	29 (8,0)
No	325 (90,0)
No hay registro	7 (1,9)

**Tabla 6.** Variables patológicas pacientes INC

Con relación al resultado de las pruebas inmunohistoquímicas, el estado de los receptores estrógeno y progesterona, mostraron un alto porcentaje de positividad en el 77,3% y 67,9%, respectivamente. Mientras que HER2 y GRB7 se expresaron con menor frecuencia (15,2% y 12,2%, respectivamente) y su co-expresión estuvo presente en el 10.2% de los casos. Más de la mitad de los tumores presentaron valores de expresión de Ki67 altos (59%). Con respecto a la clasificación de los casos en subtipos intrínsecos, se observó una alta frecuencia del subtipo luminal B (42,2%), seguido de luminal A (28%), triple negativo (15,2%) y en menos frecuencia el HER2-enriquecido (5,8%) (Tabla 7).

<b>INMUNOHISTOQUÍMICA</b>	<b>N (%)</b>
<b>Estado Receptor de Estrógenos</b>	
Negativo	82 (22,7)
Positivo	279 (77,3)
<b>Estado Receptor de Progesterona</b>	
Negativo	116 (32,1)
Positivo	245 (67,9)
<b>Estado HER2</b>	
Positivo (3+)	55 (15,2)
Equivoco (2+)	47 (13,0)
Negativo (1+)	38 (10,5)
Negativo (0+)	221 (61,2)
<b>Estado Ki67</b>	
< 20 %	148 (41,0)
≥ 20 %	213 (59,0)
<b>Estado GRB7</b>	
Positivo	44 (12,2)
Negativo	314 (87,0)
No hay registro	3 (0,8)
<b>Intensidad GRB7</b>	
Fuerte (3+)	15 (4,2)
Moderada (2+)	13 (3,6)
Débil (1+)	16 (4,4)
Negativo (0)	314 (87,0)
No hay registro	3 (0,8)
<b>Subtipo Intrínseco</b>	
Luminal A	101 (28,0)
Luminal B	163 (45,2)
HER2-enriquecido	21 (5,8)
Triple negativo	55 (15,2)
No clasificable	21 (5,8)
<b>Mediana Expresión Ki67</b>	<b>20 ± 27</b>

**Tabla 7.** Resultado de las pruebas de inmunohistoquímica realizadas sobre los pacientes incluidos

## 5.1 RESULTADOS POR OBJETIVO

### 5.1.1 Objetivo 1

Evaluar las diferencias en el comportamiento clínico de los subtipos de cáncer de mama de acuerdo con la expresión de HER2

Teniendo en cuenta que, en la población latina, incluyendo la colombiana, se ha reportado una expresión diferencial por ancestría del gen *ERBB2*, que codifica para la proteína HER2, y que en Colombia se ha observado una alta prevalencia del subtipo Luminal B; se evaluaron variables clínico-patológicas de acuerdo con la expresión proteica de HER2, en los subtipos luminal B HER2+, luminal B HER2- y HER2-enriquecido.

	LUMINAL B HER2- n= 103 N (%)	LUMINAL B HER2+ n= 34 N (%)	HER2- ENRIQUECIDO n=21 N (%)	p
<b>Edad de diagnóstico</b>				0,47
≤ 50	22 (21,4)	9 (26,5)	7 (33,3)	
> 50	81 (78,6)	25 (73,5)	14 (66,7)	
<b>Estadio Clínico</b>				0,002
I (Ia-Ib)	11 (10,7)	4 (11,8)	1 (4,8)	
II (IIa-IIb)	47 (45,6)	19 (55,9)	2 (9,5)	
III (IIIa-IIIb-IIIc)	43 (41,7)	10 (29,4)	18 (85,7)	
IV	2 (1,9)	1 (2,9)	0 (0)	
<b>Bloom Richardson</b>				0,046
I	6 (5,8)	2 (5,9)	0 (0)	
II	62 (60,2)	17 (50)	6 (28,6)	
III	34 (33)	15 (44,1)	15 (71,4)	
No hay registro	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
<b>Tamaño tumoral</b>				0,465
≤ 20	29 (28,2)	10 (29,4)	2 (9,5)	
21mm - 50mm	48 (46,6)	17 (50)	11 (52,4)	
>50mm	23 (22,3)	7 (20,6)	7 (33,3)	
No hay registro	3 (2,9)	0 (0)	1 (4,8)	
<b>Invasión</b>				0,358
Si	59 (57,3)	18 (52,9)	10 (47,6)	
No	33 (32)	13 (38,2)	11 (52,4)	
No hay registro	11 (10,7)	3 (8,8)	0 (0)	
<b>Tipo de invasión</b>				0,826
Linfática, vascular, dérmica	7 (10)	3 (14,3)	1 (10)	

Linfática, vascular, perineural	11 (15,7)	2 (9,5)	1 (10)
Linfática, vascular	27 (38,6)	11 (52,4)	6 (60)
Otros	14 (20)	2 (9,5)	2 (20)
No hay registro	11 (15,7)	3 (14,3)	0 (0)
<b>Compromiso ganglios linfáticos</b>			0,276
Si	55 (53,4)	13 (38,2)	11 (52,4)
No	31 (30,1)	9 (26,5)	7 (33,3)
No aplica	16 (15,5)	12 (35,3)	3 (14,3)
No hay registro	1 (1)	0 (0)	0 (0)
<b>Número de ganglios linfáticos</b>			0,541
1-3	22 (21,4)	6 (17,6)	5 (23,8)
4-9	19 (18,4)	4 (11,8)	2 (9,5)
9	14 (13,6)	3 (8,8)	4 (19,0)
Sin compromiso	31 (30,1)	9 (26,5)	7 (33,3)
No hay registro	17 (16,5)	12(35,3)	3 (14,3)
<b>Compromiso Ganglios centinela</b>			0,707
Si	16 (15,5)	6 (17,6)	1 (4,8)
No	17 (16,5)	8 (23,5)	4 (19)
No aplica	69 (67)	20 (58,8)	16 (76,2)
No hay registro	1 (1)	0(0)	0 (0)
<b>Estado GRB7</b>			0
Positivo	0 (0)	23 (67,6)	14 (66,7)
Negativo	101(98,1)	11 (32,4)	7 (33,3)
No hay registro	2 (1,9)	0 (0)	0 (0)
<b>Manejo Quirúrgico</b>			0,03
Cuadrantectomía	45 (43,7)	16 (47,1)	3 (14,3)
Mastectomía	58 (56,3)	18 (52,9)	18 (85,7)
<b>Bordes tumorales</b>			0,51
Si	8 (7,8)	4 (11,8)	0 (0)
No	93 (90,3)	30 (88,2)	21 (100)
No hay registro	2 (1,9)	0 (0)	0 (0)
<b>Recurrencia</b>			0,154
Si	29 (28,2)	5 (14,7)	7 (33,3)
No	69 (67)	26 (76,5)	11 (52,4)
No hay registro	5 (4,9)	3 (8,8)	3 (14,3)
<b>Tipo de Recurrencia</b>			0,038
Local	3 (8,8)	0 (0)	0 (0)
Regional	2 (5,9)	3 (37,5)	1 (10)
Sistémica	23 (67,6)	2 (25,5)	4 (40)
Regional - Sistémica	1 (2,9)	0 (0,0)	2 (20)
No hay registro	5 (14,7)	3 (37,5)	3 (30)
<b>Estado vital</b>			0,627

Fallecida	24 (23,3)	6 (17,6)	7 (33,3)	
Viva	78 (75,7)	28 (82,4)	14 (66,7)	
No hay registro	1 (1,0)	0 (0)	0 (0)	
<b>Factor continuo</b>		<b>Mediana</b>		<b>K-W p</b>
<b>Tamaño del tumor</b>	33 ± 26	30 ± 24	49 ± 23	0,043
<b>Ki67</b>	20 ± 21	30 ± 22	50 ± 24	0,001

**Tabla 8.** Características clínico-patológicas de pacientes diagnosticadas con cáncer de mama entre el año 2013 y 2015, en el Instituto Nacional de Cancerología E.S.E, de acuerdo con los subtipos Luminal B (HER2+/-) y HER2 enriquecido.

El grupo etario predominante al momento del diagnóstico entre los subtipos intrínsecos estuvo en la categoría mayor de 50 años. Se observó, en general que, en los tres subtipos, los pacientes presentaban invasión al momento del diagnóstico, principalmente del tipo linfática-vascular, poca recurrencia y sin compromiso de bordes. A la gran mayoría de los casos no se les realizó el procedimiento del ganglio centinela y presentaban ganglios linfáticos comprometidos al momento de la cirugía.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los subtipos en el estadio del diagnóstico ( $p = 0,002$ ), escala de Bloom Richardson ( $p=0,046$ ), manejo quirúrgico ( $p = 0,03$ ) y tipo de recurrencia ( $p =0,038$ ) (Tabla 8).

Un mayor porcentaje de casos del subtipo HER2-enriquecido fue diagnosticado en estadio III (85,7%), en comparación con las pacientes de los otros subtipos donde predominó el estadio II y III. En relación al grado tumoral, el grado tumoral II predominó entre los subtipos luminal B HER2- y luminal B HER2+ (60,2% y 50%, respectivamente), mientras que el subtipo HER2-enriquecido, mostró un mayor porcentaje (71.4%) para el grado III ( $p =0,046$ ).

El tamaño tumoral en su mayoría estuvo entre los 21 a 50 milímetros (mm), con medianas de 33mm, 30mm y 49mm en tumores luminal B HER2-, luminal B HER2+ y HER2-enriquecido, respectivamente. Al ser analizada esta como una variable cuantitativa, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los subtipos ( $p = 0,043$ -Kruskal-Wallis). El análisis post hoc, arrojó una diferencia estadísticamente significativa entre el subtipo luminal B HER2+ y el subtipo HER2-enriquecido ( $p = 0,040$ ).

En cuanto al manejo quirúrgico, se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,03$ ) entre los tres subtipos. Las mujeres con tumores del subtipo HER2-enriquecido recibieron un manejo quirúrgico principalmente con mastectomía (85,7%), a diferencia de las mujeres con subtipos luminales B que presentaron porcentajes equiparables entre el manejo quirúrgico con mastectomía o cuadrantectomía.



Respecto a la recurrencia de la enfermedad, a pesar de que en general en los tres subtipos fueron poco frecuentes las recurrencias ( $p= 0,154$ ), los subtipos Luminal B HER2- y HER2-enriquecido, fueron más propensos a desarrollar recurrencias sistémicas (67,6% y 40% respectivamente) ( $p = 0,037$ ).

Por otro lado, aunque la mayoría de los casos presentó una alta expresión de Ki67 ( $p=0,28$ ), cuando Ki67 se evaluó como una variable continua, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los subtipos ( $p=0,001$ ), con medianas de 20%, 30%, 50% para los subtipos luminal B HER2-, luminal B HER2 + y HER2 enriquecido respectivamente. Al realizar el análisis post Hoc, las diferencias estadísticamente significativas se encontraron entre los subtipos luminal B HER2- y HER2-enriquecido ( $p = 0,001$ ) y luminal B HER2+ y HER2-enriquecido ( $p = 0,044$ ).

Por último, la expresión de GRB7 se observó únicamente en los subtipos con expresión de HER2, con porcentajes de 67,6% y 66,7% para los subtipos luminal B HER2+ y HER2-enriquecido respectivamente.

### 5.1.2 Objetivo 2

Analizar las diferencias en la presentación de las variables clínico-patológicas de acuerdo a la expresión de GRB7 en pacientes diagnosticados con tumores HER2 positivos.

Para el análisis de este objetivo, se tuvo en cuenta únicamente los tumores HER2 positivos (luminal B HER2+ y HER2-enriquecido) teniendo en cuenta que solo dentro de estos tumores se expresó la proteína GRB7 (Tabla 8). Se establecieron dos grupos para dar respuesta a este objetivo: tumores HER2+/GRB7+ y tumores HER2+/GRB7- (Tabla 9).

	<b>GRB7 POSITIVO</b> n=37 N (%)	<b>GRB7 NEGATIVO</b> n=18 N (%)	<b>P</b>
<b>Edad de diagnóstico</b>			0,881
≤ 50	11 (29,7)	5 (27,8)	
> 50	26 (70,3)	13 (72,2)	
<b>Estadio Clínico</b>			0,677
I (Ia-Ib)	3 (8,1)	2 (11,1)	
II (IIa-IIb)	16 (43,2)	5 (27,8)	
III (IIIa-IIIb-IIIc)	17 (45,9)	11 (61,1)	
IV	1 (2,7)	0 (0)	
<b>Bloom Richardson</b>			0,32
I	2 (5,4)	0 (0)	
II	13 (35,1)	10 (55,6)	

III	22 (59,5)	8 (44,4)	
<b>Tamaño tumoral</b>			0,003
≤ 20	8 (21,6)	4 (2,2)	
21mm - 50mm	24 (64,9)	4 (22,2)	
>50mm	5 (9,4)	9 (50)	
No hay registro	0 (0)	1 (5,6)	
<b>Invasión</b>			1
Si	19 (51,4)	9 (50)	
No	16 (43,2)	8 (44,4)	
No hay registro	2 (5,4)	1 (5,6)	
<b>Tipo de invasión</b>			0,96
Linfática, vascular, dérmica	2 (9,5)	5 (50)	
Linfática, vascular, perineural	2 (9,5)	1 (10)	
Linfática, vascular	12 (57,1)	2 (20)	
Otros	3 (14,3)	1 (10)	
No hay registro	2 (9,5)	1 (10)	
<b>Compromiso ganglios linfáticos</b>			0,71
Si	15 (40,5)	9 (50)	
No	12 (32,4)	4 (22,2)	
No aplica	10 (27)	5 (27,8)	
<b>Número de ganglios linfáticos</b>			0,317
1-3	9 (24,3)	2 (11,1)	
4-9	2 (5,4)	4 (22,2)	
Mayor a 9	4 (10,8)	3 (16,7)	
Sin compromiso	12 (32,4)	4 (22,2)	
No hay registro	10 (27)	5 (27,8)	
<b>Compromiso Ganglios centinela</b>			0,397
Si	5 (13,5)	2 (11,1)	
No	10 (27)	2 (11,1)	
No aplica	22 (59,5)	14 (77,8)	
<b>Estado Ki67</b>			0,272
< 20	4 (10,8)	4 (22,2)	
≥ 20	33 (89,2)	14 (77,8)	
<b>Receptor Estrógenos</b>			0,94
Positivo	23 (62,2)	11 (61,1)	
Negativo	14 (37,8)	7 (38,9)	
<b>Receptor Progesterona</b>			0,631
Positivo	18 (48,6)	10 (55,6)	
Negativo	19 (51,4)	8 (44,4)	
<b>Subtipo intrínseco</b>			0,94
Luminal B HER2+	23 (62,2)	11 (61,1)	
HER2 Enriquecido	14 (37,8)	7 (38,9)	
<b>Manejo Quirúrgico</b>			0,18
Cuadrantectomía	15 (40,5)	4 (22,2)	

Mastectomía	22 (59,5)	14 (77,8)	
<b>Bordes tumorales</b>			1
Si	3 (8,1)	1 (5,6)	
No	34 (91,9)	17 (94,4)	
<b>Recurrencia</b>			0,097
Si	5 (13,5)	7 (38,9)	
No	27 (73)	10 (55,6)	
No hay registro	5 (13,5)	1 (5,6)	
<b>Tipo de Recurrencia</b>			0,164
Local	0 (0)	0 (0)	
Regional	1 (10)	3 (37,5)	
Sistémica	2 (20)	4 (50)	
Regional – Sistémica	2 (20)	0 (0)	
No hay registro	5 (50)	1 (12,5)	
<b>Estado vital</b>			0,738
Fallecida	8 (21,6)	5 (27,8)	
Viva	29 (78,4)	13 (72,2)	
<b>Factor continuo</b>		<b>Mediana</b>	<b>U-MannW p</b>
<b>Tamaño del tumor</b>	30 ± 19	51 ± 32	0,098
<b>Ki67</b>	40 ± 23	28 ± 23	0,028

**Tabla 9.** Características clínico-patológicas de pacientes diagnosticadas con cáncer de mama entre el año 2013 y 2015, en el Instituto Nacional de Cancerología E.S.E, de acuerdo con la expresión de GBR7 en tumores HER2 positivos

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos únicamente para la variable de tamaño tumoral ( $p=0,003$ ) y porcentaje de expresión de Ki67 ( $p=0,028$ ).

Tumores con un tamaño mayor de 50 milímetros (mm) fueron más frecuentemente observados en los tumores HER2+/GRB7- (50%) y un tamaño entre 21 a 50 milímetros (mm) fue más frecuentemente observado en el grupo de tumores HER2+/GRB7+ (64,9%). Cuando esta variable se evaluó como continua, las medianas del tamaño del tumor fueron 30 mm y 51 mm para los grupos HER2+GRB7+ y HER2+/GRB7-, respectivamente y esta diferencia fue estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 90% ( $p = 0,097$ ).

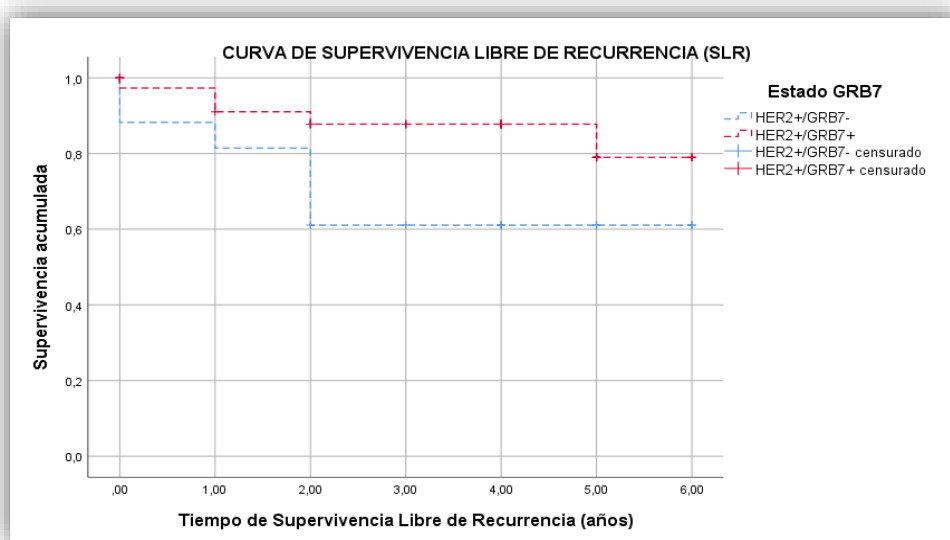
Con respecto al índice de proliferación celular Ki67, la mayoría de los tumores presentaron una alta expresión de Ki67 independiente del estado de GRB7 ( $p=0,272$ ). Sin embargo, al ser esta evaluada como variable cuantitativa, un más alto porcentaje de expresión de Ki67 se encontró en el grupo HER2+/GRB7+ en comparación con los HER2+/GRB7- (medianas de 40% y 28%, respectivamente) ( $p=0,029$ ).

Otras variables que mostraron diferencias estadísticamente significativas, pero con un nivel de confianza del 90% fueron: el manejo quirúrgico ( $p=0,18$ ), la presencia de recurrencias ( $p=0,097$ ) y el tipo de recurrencia ( $p=0,164$ ). El manejo quirúrgico fue principalmente mastectomía, sin embargo, un más alto porcentaje de cuadrantectomías se observa en el grupo HER2+/GRB7+ en comparación con el HER2+/GRB7- (40,5% vs. 22,2%, respectivamente). En relación con la recurrencia, esta fue menos frecuente en los tumores HER2+/GRB7+ (13,5%) en comparación con los HER2+/GRB7- (38,9%). Dentro del tipo de recurrencia, las más frecuentes fueron las recurrencias regionales y sistémicas.

Dentro de la muestra general tanto para el grupo HER2+/GRB7- y HER2+/GRB7+ se observó que los estadios clínicos II y III fueron los más frecuentes, hubo presencia de invasión, principalmente de tipo linfática vascular, compromiso ganglionar y ausencia de compromiso de bordes tumorales.

### Supervivencia libre de recaída de acuerdo a la expresión de GRB7

El análisis de supervivencia libre de recaída (SLR), mostró un mayor tiempo de supervivencia libre de recurrencia para las pacientes con tumores HER2+/GRB7+ en comparación con las pacientes con tumores HER2+/GRB7-. La media en años de supervivencia libre de recurrencia fue de 5,3 años y 4,1 años para pacientes HER2+/GRB7+ y HER2+/GRB7- respectivamente. Esta diferencia es estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 90% ( $p= 0,070$ ).



**Figura 5.** Curva de supervivencia libre de recaída pacientes diagnosticadas con tumores HER2 positivo entre el año 2013-2015 en el Instituto Nacional de Cancerología E.S.E, de acuerdo a la expresión de GRB7.

### 5.1.3 Objetivo 3

Establecer la relación entre la intensidad de expresión de GRB7 con características de interés clínico.

Para este objetivo, se analizó si existe diferencia en la presentación de variables clínico-patológicas de acuerdo a la intensidad de tinción por inmunohistoquímica de la proteína GRB7 cuando se expresa en tumores HER2 positivos. Para ello, se establecieron tres grupos de acuerdo a la intensidad de tinción: GRB7 fuerte, GRB7 moderado y GRB7 débil.

VARIABLE	GRB7 (Débil 1+) n= 10 N (%)	GRB7 (Moderada 2+) n=12 N (%)	GRB7 (Fuerte 3+) n=15 N (%)	p
<b>Edad de diagnóstico</b>				0,454
≤ 50	4 (40)	2 (16,7)	5 (33,3)	
> 50	6 (60)	10 (88,3)	10 (66,7)	
<b>Estadio Clínico</b>				0,19
I (Ia-Ib)	1 (10)	2 (16,7)	0 (0)	
II (IIa-IIb)	3 (30)	7 (58,3)	6 (40)	
III (IIIa-IIIb-IIIc)	5 (50)	3 (25)	9 (60)	
IV	1 (10)	0 (0)	0(0)	
<b>Bloom Richardson</b>				0,135
I	1 (10)	1 (8,3)	0 (0)	
II	6 (60)	3 (25)	4 (26,7)	
III	3 (30)	8 (66,7)	11 (73,3)	
<b>Tamaño tumoral</b>				0,797
≤ 20	1 (10)	4 (33,3)	3 (20)	
21mm - 50mm	7 (70)	7 (58,3)	10 (66,7)	
>50mm	2 (20)	1 (8,3)	2 (13,3)	
<b>Invasión</b>				0,977
Si	6 (60)	6 (50)	7 (46,7)	
No	4 (40)	5 (41,7)	7 (46,7)	
No hay registro	0 (0)	1 (8,3)	1 (6,7)	
<b>Tipo de invasión</b>				0,589
Linfática, vascular, dérmica	1 (16,7)	0 (0)	1 (12,5)	
Linfática, vascular, perineural	2 (33,3)	0 (0)	0 (0)	
Linfática, vascular	3 (50)	4 (57,1)	5 (62,5)	
Otros	0 (0)	2 (28,6)	1 (12,5)	
No hay registro	0 (0)	1 (14,3)	1 (12,5)	
<b>Compromiso ganglios linfáticos</b>				0,688
Si	5 (50)	5 (41,7)	5 (33,3)	
No	2 (20)	3 (25)	7 (46,7)	
No aplica	3 (30)	4 (33,3)	3 (20)	

<b>Número de ganglios linfáticos</b>				0,797
1-3	2 (20)	4 (33,3)	3 (20)	
4-9	1 (10)	0 (0)	1 (6,7)	
9	2 (20)	1 (8,3)	1 (6,7)	
Sin compromiso	2 (20)	3 (25)	7 (46,7)	
No aplica	3 (30)	4 (33,3)	3 (20)	
<b>Compromiso Ganglios centinela</b>				0,856
Si	2 (20)	2 (16,7)	1 (6,7)	
No	2 (20)	3 (25)	5 (33,3)	
No aplica	6 (60)	7 (58,3)	9 (60)	
<b>Estado Ki67</b>				0,159
< 20	2 (20)	2 (16,7)	0 (0)	
≥ 20	8 (80)	10 (83,3)	15 (100)	
<b>Subtipo intrínseco</b>				0,075
Luminal B HER2+	7 (70)	10 (83,3)	6 (40)	
HER2 Enriquecido	3 (30)	2 (16,7)	9 (60)	
<b>Manejo Quirúrgico</b>				0,236
Cuadrantectomía	4 (40)	7 (58,3)	4 (26,7)	
Mastectomía	6 (60)	5 (41,7)	11 (73,3)	
<b>Bordes tumorales</b>				0,172
Si	2 (20)	1 (8,3)	0 (0)	
No	8 (80)	11 (91,7)	15 (100)	
<b>Recurrencia</b>				0,333
Si	2 (20)	2 (16,7)	1 (6,7)	
No	7 (70)	10 (83,3)	10 (66,7)	
No hay registro	1 (10)	0 (0)	4 (26,7)	
<b>Tipo de Recurrencia</b>				0,218
Local	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Regional	0 (0)	1 (50)	0 (0)	
Sistémica	1 (33,3)	0 (0)	1 (20)	
Regional – Sistémica	1 (33,3)	1 (50)	0 (0)	
No hay registro	1 (33,3)	0 (0)	4 (80)	
<b>Estado vital</b>				1
Fallecida	2 (20)	3 (25)	3 (20)	
Viva	8 (80)	9 (75)	12 (80)	
<b>Factor continuo</b>		<b>Mediana</b>		<b>K-W p</b>
<b>Tamaño del tumor</b>	34 ± 20	29 ± 16	30 ± 21	0,877
<b>Ki67</b>	40 ± 26	30 ± 25	40 ± 18	0,102

**Tabla 10.** Características clínico-patológicas de pacientes diagnosticadas con cáncer de mama entre el año 2013 y 2015, en el Instituto Nacional de Cancerología E.S.E, de acuerdo a la intensidad de expresión de GBR7, en casos GRB7 positivos por IMH

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las variables. Sin embargo, se encontraron algunas con un nivel de confianza del 90% que sugieren que

las intensidades moderada y fuerte de GRB7 se observa en tumores con características clínico-patológicas de mal pronóstico.

Los estadios clínicos más comunes fueron II y III para los tres grupos. En los grupos con tinción de GRB7 débil o moderada fue en los únicos donde se observaron casos diagnosticados en estadios I (10% y 16%, respectivamente) ( $p=0,19$ ). Con respecto al grado de Bloom-Richardson ( $p=0,135$ ), un más alto porcentaje de tumores de grado III se observó para tumores con intensidades de GRB7 fuerte y moderada (73% y 66,6%, respectivamente), en comparación con GRB7 débil (30%). No se encontraron tumores con intensidad fuerte de GRB7 en grado de Bloom-Richardson de I. Interesantemente, únicamente se observó compromiso de bordes en los grupos de GRB7 con intensidad débil y moderada (20% y 8,3%, respectivamente) ( $p=0,172$ ).

Se observó mayor frecuencia de invasión para la intensidad GRB7 débil (60%). En general, en las tres intensidades se observó predominio de la invasión linfática-vascular y el tamaño tumoral entre 21mm a 50mm. En las intensidades GRB7 débil y moderada predominó el compromiso de ganglios, con porcentajes de 50% y 41,7% respectivamente. Al mismo tiempo, los casos con intensidad débil (60%) y fuerte (73,3%) fueron tratados principalmente con mastectomía.

Para las tres intensidades, se observó un número más alto de tumores con Ki67  $\geq 20$ . Únicamente en las intensidades débil y moderada se encontraron tumores con Ki67  $< 20\%$  (20% y 16,7%, respectivamente) ( $p=0,159$ ). Cuando Ki67 fue evaluado como variable continua, se observaron medianas de 40%, 30% y 40% para GRB7 débil, GRB7 moderado, y GRB7 fuerte, respectivamente ( $p=0,102$ ).

Finalmente, respecto a los subtipos intrínsecos, GRB7 fuerte tuvo mayor frecuencia en el subtipo HER2-enriquecido (60%), mientras que las intensidades débil (70%) y moderada (83.3%) mostraron mayores porcentajes para luminal B ( $p = 0,076$ ).

## 7. DISCUSIÓN

Para la población colombiana se ha reportado una alta prevalencia del subtipo luminal B (Gómez et al., 2015; Serrano et al., 2016) con porcentajes que varían entre 30% y 40%. En el presente estudio, los resultados van en línea con los reportes previos ya que se encontró una prevalencia del subtipo luminal B del 45,2%, un porcentaje similar al reportado previamente en Colombia. El porcentaje de luminal B HER2+ fue de 28,5%, luminal B HER2- fue de 9,4% y de luminal B HER2 equivoco fue de 7,2%. Estos resultados van en línea con reportes para la población latina. En Brasil, de Macêdo et al., en 2014 reportó una prevalencia del subtipo luminal B del 44%, sin embargo, en el estudio de Simon et al., 2019, que incluyó un mayor tamaño de muestra, mostró una mayor prevalencia del luminal A (luminal A (49,9%), luminal B HER2- (8,7%); luminal B HER2+ (13,2%)). Perú y México, presentan una mayor proporción de los subtipos luminal A y triple negativo, con porcentajes de 49.1% y 21.3%; 65% y 14% respectivamente (Vallejos et al., 2010; Rojas et al., 2019; Pérez-Rodríguez, 2015). En otros países de Latinoamérica como Argentina y Puerto Rico se presenta para 2012 y 2013 en mujeres diagnosticadas con CM invasivo, una prevalencia del subtipo luminal A con frecuencias de 76% y 61,8% respectivamente (Abuchacra et al., 2012; Ortiz et al., 2013). La diferencia en la distribución de subtipos en los diferentes países latinoamericanos puede deberse a factores metodológicos, relacionados con las técnicas empleadas para la evaluación de los sustitutos inmunohistoquímicos (RE, RP, Ki67 y HER2) y la forma de asignación de los subtipos intrínsecos que tiene que ver con los puntos de corte establecidos por el consenso del panel de expertos de St. Gallen, además, de factores biológicos que aún hoy desconocemos.

La prevalencia del subtipo HER2-enriquecido fue 5,8%, que, aunque es baja, este subtipo fue incluido teniendo en cuenta la importancia del gen *ERBB2* en la población Latina incluyendo la colombiana, en la que se ha reportado que una mayor fracción de ancestría indígena americana se relaciona con el desarrollo de un subtipo HER2+ (Marker et al., 2020). Martínez y colaboradores en 2017 analizaron la información del registro de cáncer de California, donde encontraron que los tumores triple negativo y HER2+ fueron más comunes en mujeres latinas que en mujeres blancas americanas lo que es consistente con trabajos anteriores (Hines, 2011; Howlader et al., 2014). Por otra parte, Banegas et al., 2014 en una investigación con mujeres latinas residentes en California, mostró que las mujeres latinas que nacieron fuera de Estados Unidos tenían mayor probabilidad de tener tumores HR-/HER2+ que aquellas latinas nacidas allí, además destaca que un menor estatus económico puede también incrementar esta probabilidad.



Se compararon las diferencias en la distribución de las variables clínico - patológicas entre los subtipos de interés de este estudio. Esto con el objetivo de analizar si estos presentan un comportamiento clínico similar a lo que ha sido previamente reportado. Las mujeres con tumores del subtipo luminal B se encontraban principalmente en estadios menos avanzados que aquellas del subtipo HER2-enriquecido. Esto es concordante con reportes anteriores. Por ejemplo, Li et al., en 2015 encontró un mayor porcentaje de tumores del subtipo HER2-enriquecido en estadio clínico III (21,6%) en comparación con el subtipo luminal B HER2 positivo (9,6%). Resultados similares fueron descritos por Kim et al., 2019 para tumores HER2-enriquecido con un porcentaje de 42,1% de los casos en estadio clínico III. Sin embargo, otros estudios han reportado que las proporciones de casos de subtipos HER2-enriquecido y luminal B HER2+ para los estadios clínicos II y III son similares (Bueno et al., 2017; Ferguson et al., 2013), esto, puede estar relacionado con el estadio temprano en el que se encontraban las pacientes incluidas en estos estudios, por lo que es importante señalar que en general dentro de toda la muestra de nuestro estudio, las pacientes se encontraban en estadios avanzados al momento del diagnóstico, esto puede deberse a que la mayoría de mujeres que ingresan al INC E.S.E se diagnostican en estadios localmente avanzados (Díaz et al., 2019).

El estadio avanzado de los tumores HER2-enriquecido puede deberse a la biología de estos tumores. La expresión y activación de HER2 implica la activación de proteínas involucradas en vías de señalización relacionadas con la proliferación, supervivencia, migración, angiogénesis y diferenciación celular como PI3K/AKT y Ras/Raf/MEK/MAPK (Turke et al., 2012; Carpenter et al., 2013; Beguelin et al., 2010; Loibl & Gianni, 2017). En los tumores HER2 positivos se han observado diferentes alteraciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad, como mutaciones en el dominio tirosin quinasa, que pueden resultar en un receptor con una mayor actividad que el receptor HER2 de tipo salvaje (*wild type*), induciendo una mayor activación de vías de proliferación e inducción de supervivencia, invasión y tumorigenicidad celular (Petrelli et al., 2017). También se ha reportado que la sobreexpresión de HER2 está relacionada con bajos niveles de expresión del inhibidor del ciclo celular p27 y un aumento en la expresión de factores que regulan la progresión del ciclo celular, como CDK6, ciclinas D1 y E (Timms et al., 2002; Casalini et al., 2007). Lo anterior puede explicar en parte el mayor tamaño tumoral y mayor frecuencia en el compromiso ganglionar que se observa en los tumores del subtipo HER2-enriquecido (Li et al., 2015; Ahmed et al., 2016; Mattes et al., 2015; Wu et al., 2018).

A nivel histológico, la evaluación de la escala de Bloom-Richardson tiene en cuenta el índice mitótico, la formación de túbulos y el pleomorfismo nuclear (Rakha et al., 2010). Se ha

reportado que los tumores HER2 positivos tienen un menor grado de diferenciación bajo la escala Bloom Richardson (Voduc et al., 2010; Wu et al., 2017). En nuestros datos, esto se evidenció principalmente para el subtipo HER2 enriquecido y no para el subtipo luminal B HER2+, donde predominó el grado tumoral moderadamente diferenciado al igual que en los luminal B HER2-. Estos resultados son similares con las observaciones en los estudios de Alabdulkareem et al. 2017 y Li et al. 2015, realizados en mujeres asiáticas y canadienses respectivamente, donde el grado tumoral difiere significativamente entre los tumores HER2-enriquecido y los luminal B (HER2+ y HER2-).

Estudios donde compararon la expresión diferencial de genes de acuerdo al grado histológico en tumores de cáncer de mama, mostraron que los tumores grado III, se relacionan estrechamente con los subtipos HER2-enriquecido y TN (Ivshina et al., 2006; Al-thoubaity, 2019; Takahashi et al., 2020), expresando con mayor frecuencia genes relacionados con la proliferación y migración celular, como *CCNB1*, *CDK1*, *KIF2C*, *NDC80*, *UBE2C*, y *CCNB2*, *MKI67*, además de la expresión del factor de crecimiento epidermal, factor de crecimiento de fibroblastos (Sotiriou et al., 2006, Ivshina et al., 2006; Jayanthi et al., 2019, Shrestha et al., 2020; Takahashi et al., 2020) y frecuentes mutaciones en *TP53* y *PTEN* (Li et al., 2020, Liu et al., 2018). A pesar de que en nuestra cohorte de datos se observó un mayor porcentaje de tumores luminal B diagnosticados grado II de Bloom-Richardson, esto no quiere decir que estos tumores tengan un mejor pronóstico respecto a tumores con grado III, pues diversos estudios han señalado que parte de los tumores grado II presentan perfiles moleculares que involucran una mayor expresión de genes que favorecen la progresión del ciclo celular y angiogénesis similar a lo evidenciado para tumores grado III, por tanto pueden exhibir un pronóstico menos favorable (Ivshina et al., 2006, Sotiriou et al., 2006).

Por otra parte, estudios previos han mostrado una correlación entre una alta expresión de Ki67 y una menor diferenciación histológica (Liang et al, 2020; Mohammed et al., 2019; Elkablawy et al., 2016). En nuestros resultados se observó que todos los subtipos analizados presentaron una alta expresión de Ki67 ( $\geq 20$ ) pero sólo el grado tumoral III predominó en los casos del subtipo HER2-enriquecido. Al mismo tiempo, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la expresión cuantitativa de Ki67 entre los subtipos analizados, donde el HER2-enriquecido tuvo la más alta expresión de Ki67 con una mediana de 50%, seguido de los Luminal B HER2+ con 30% y Luminal B HER2- con 20%, similar a lo reportado en la literatura (Hashmi et al., 2019, Ferguson et al., 2013, Mohammed et al., 2020; Nishimura et al., 2010). La alta expresión de Ki67 tumores del subtipo HER2-enriquecido puede deberse a que la sobreexpresión de HER2 induce una rápida proliferación en las células tumorales (Hou et al., 2020). Adicionalmente, para este subtipo se ha reportado un

alto porcentaje de mutaciones en el gen supresor de tumor *TP53* (72%), (Cancer Genome Atlas, 2012; Li et al., 2020), estas mutaciones, pueden conferir una inestabilidad genética a los tumores (Hanel & Moll, 2012; Yamaguchi et al., 2018) dando lugar a un aumento en la proliferación celular, angiogénesis y capacidad invasiva del tumor (Bouchalova et al., 2014; Lo Nigro et al., 2012; Muller & Vousden, 2013; Mantovani et al., 2018) lo que resulta en un comportamiento clínico-patológico más agresivo como lo es un mayor tamaño tumoral, mayor índice de proliferación Ki67, menor diferenciación celular (Abubakar et al. 2019; Koçak et al., 2020; Yamaguchi et al., 2018) y menores tasas de supervivencia global (Silwal-Pandit et al., 2014; Fountzilias et al., 2016).

Serrano y colaboradores en el año 2017 encontraron que en cáncer de mama la expresión de los genes *ERBB2* y *GRB7*, en el subtipo luminal B presentan una mayor expresión en pacientes con una mayor fracción de ancestría indígena americana. Estos, codifican para las proteínas HER2 y GRB7 respectivamente. HER2 participa en eventos de proliferación y supervivencia celular (Hou et al., 2020; MacCann & Slamon et al., 2018; Sareyeldin et al., 2019), mientras que GRB7, además de participar en la proliferación celular, se asocia con eventos de angiogénesis y migración celular (Han et al., 2001; Shen & Guan, 2004, Fernández et al., 2008; Luoh, 2019).

La expresión de GRB7 se ha reportado asociada con tumores HER2 positivo, dado que los genes *GRB7* y *ERBB2* se encuentran ubicados en el amplicón *ERBB2* (Bivin et al., 2018, Evans et al., 2006; Luoh et al., 2019), esto fue concordante con lo observado en nuestra muestra de estudio. A pesar de ello, se ha reportado que esta proteína puede estar presente en expresiones bajas en tumores triple negativo y otros luminales (Calvo et al., 2013; Lim et al., 2014; Sparano et al., 2011). En el presente estudio solo se encontró un caso triple negativo positivo para GRB7, lo que es concordante con lo previamente reportado.

Cuando se analizaron las diferencias en la presentación de variables clínico patológicas en los casos HER2 positivos de acuerdo a la expresión de GRB7, se observó que en los tumores HER2+/GRB7+ predominó un tamaño tumoral entre los 21mm y 50mm, con una mediana de 30 mm, esto puede ser comparable con los resultados obtenidos por Ramsey et al. 2011 y Zhao et al., 2017 para cáncer de mama y cáncer cervical, respectivamente. Estas investigaciones sugieren que el tamaño tumoral de los tumores que expresan GRB7+ es mayor en comparación con aquellos donde esta proteína no se expresa, esto, curiosamente no se observó en nuestra cohorte de datos, pues los tumores GRB7- presentaron un mayor tamaño tumoral con una mediana de 50 mm, aun cuando en la literatura se ha reportado que GRB7 resulta esencial en el crecimiento de los tumores HER2 positivo (Luoh et al., 2019) ya

que esta, interactúa como proteína adaptadora a través de su dominio SH2 con HER2, favoreciendo la activación de rutas de proliferación y supervivencia celular (Bai & Lioh, 2008 ; Nencioni et al., 2010; De Pradip et al, 2013; Luoh, 2019).

El menor tamaño tumoral de los tumores HER2 +/GRB7+ puede relacionarse con los planteamientos de Lim et al. 2014 y Giricz et al. 2011 que basados en la inhibición de la actividad de GRB7 en líneas celulares de cáncer de mama Triple negativo y HER2+, concluyeron que esta proteína no interviene de manera significativa en la proliferación celular, pero si en la supervivencia e inhibición de apoptosis de las células, de manera que en nuestros resultados GRB7 puede no necesariamente estar relacionada con un mayor tamaño tumoral.

Estudios previos han sugerido una mayor recurrencia en cáncer de mama para los tumores que expresan la proteína GRB7 (Cobleigh, 2005; Chu et al., 2019, Ramsey et al. 2011, Sparano et al., 2012) y a su vez, para aquellos con una alta expresión de la proteína Ki67 (Cidado et al., 2016, Ignatiadis et al., 2016; Inwald et al., 2013; Nahed & Shaimaa, 2016). Sin embargo, en nuestros datos, los tumores HER2+/GRB7+ presentaron menor recurrencia y mayor tiempo de supervivencia libre de caída que los tumores HER2+/GRB7-, lo que resulta interesante teniendo en cuenta que los tumores HER2+/GRB7+ mostraron un alto índice de proliferación, y que se ha reportado que la expresión de GRB7 está asociada con procesos de proliferación y migración celular (Zhao et al., 2017). Además, la expresión de estas proteínas está asociada a un peor pronóstico en comparación a cuando solo se expresa HER2 (Nadler et al., 2010). Hasta la fecha, no hay reportes que puedan explicar el mecanismo biológico por el cual estamos observando los resultados opuestos a lo reportado en la literatura.

Por otro lado, cuando se evaluaron las diferencias entre las variables clínico-patológicas de acuerdo a la intensidad de tinción de GRB7, no se encontraron diferencias significativas. Sin embargo, se observó que la intensidad alta presentaba mayor porcentaje de casos HER2-enriquecido, lo que está relacionado a que una alta expresión de GRB7 está asociada con la sobreexpresión de HER2 (Vermehren-Schmaedick et al., 2020; Ramsey et al., 2011). En el estudio de Vermehren-Schmaedick *et al.* (2020), la expresión de GRB7 a nivel de membrana se asoció con un mejor pronóstico en comparación a cuando se expresó a nivel de membrana y citoplasma en cáncer de mama, mostrando un menor compromiso de ganglios linfáticos, sin embargo, esto no es observable dentro de nuestro estudio, teniendo en cuenta que no se realizó distinción respecto al sitio de expresión de la proteína.

Estudios previos, como el de Zlobec y colaboradores en 2007, a partir de la evaluación de los marcadores p53, Her2 / neu, EGFR, APC y  $\beta$ -catenina en tumores de cáncer colorrectal, observaron que la intensidad de tinción puede ser variable entre las muestras, debido al tiempo de almacenamiento de las mismas y a la variabilidad interobservador, sugiriendo que esto influye en el resultado de la asociación entre estas proteínas y variables clínico-patológicas, por lo que concluyeron que la intensidad de tinción no resulta informativa en estos casos, contrario a lo que sucede cuando se reporta el porcentaje de tinción.

## 8. CONCLUSIONES

Los resultados del presente trabajo sugieren que los tumores del subtipo HER2-enriquecido presentan características clínico-patológicas menos favorables como un estadio clínico más avanzado, mayor grado tumoral y mayor índice de proliferación celular, en comparación con tumores del subtipo luminal B. De forma interesante queda por explorar una diferenciación más clara entre los tumores luminal B de acuerdo a la expresión de HER2, ya que en el presente estudio la poca muestra y el estadio localmente avanzado de las pacientes pudo impedir la evidencia de características diferenciales.

La co-expresión de HER2 y GRB7 en cáncer de mama, aunque puede relacionarse con características clínico-patológicas desfavorables, mostró un menor tamaño tumoral, poca recurrencia y un mayor tiempo de supervivencia libre de recaída en comparación a cuando GRB7 no se expresa en tumores HER2 positivos. Aún no se conoce el mecanismo biológico que pueda explicar este resultado, por lo que estudios con un mayor tamaño de muestra son necesarios para corroborar esto. La intensidad de tinción de GRB7 no resultó informativa respecto a las variables de interés clínico en el presente estudio, sin embargo, teniendo en cuenta la importancia de esta proteína en los tumores HER2+, sería interesante realizar este análisis con un mayor número de muestra y tener en cuenta la expresión de GRB7 a nivel de membrana y citoplasma.

## 9. FORTALEZAS Y LIMITACIONES

Dentro de las fortalezas de este estudio, se encuentra el análisis del subtipo luminal B que se ha reportado más prevalente en estudios previos para la población colombiana. En este, se analizó este subtipo de acuerdo a la expresión de HER2 y evaluó la relación entre los subtipos luminal B HER2+ y luminal B HER2- y variables de interés clínico-patológico. A su vez este, hace parte de uno de los primeros estudios para la población colombiana que evalúan la co-expresión de GRB7/HER2 y su asociación con variables de interés clínico en nuestra población. Adicional a ello se resalta un seguimiento debidamente documentado de las pacientes.

Por otro lado, las limitaciones del presente trabajo están relacionadas con el tamaño muestral y con que la mayoría de los casos incluidos se encontraban en estadios localmente avanzados, por lo que las pacientes presentaban características clínicas agresivas. Teniendo en cuenta que la expresión de *ERBB2* y *GRB7* podría estar modulada por ancestría, hubiese sido enriquecedor para el estudio incluir casos de varias regiones del país y analizar la expresión de estas dos proteínas en función de la ancestría genética de las pacientes.

## 10. RECOMENDACIONES

Con el fin de obtener resultados más claros acerca de la asociación entre la presentación de las variables clínico-patológicas y la expresión de las proteínas HER2/GRB7, es importante para futuras investigaciones tener en cuenta el cálculo del tamaño muestral, de esta forma es posible detectar pequeñas diferencias, obtener resultados óptimos y realizar interpretaciones más acertadas.

Teniendo en cuenta que Vermehren-Schmaedick y colaboradores en 2020, sugieren que la expresión de GRB7 en membrana podría estar asociada a un mejor pronóstico en tumores de CM, se recomienda para futuros trabajos distinguir la expresión de GRB7 de acuerdo a su ubicación celular, membrana o citoplasma y dilucidar los posibles mecanismos de señalización que esta proteína tiene según su ubicación, en mujeres colombianas diagnosticadas con CM.

Para próximas investigaciones en CM, relacionadas con la asociación entre la co-expresión de HER2/GRB7 en tumores y variables de interés clínico, sería oportuno tener en cuenta la influencia que pueden generar los diferentes tratamientos como la adyuvancia, la neoadyuvancia y la radioterapia.

Por último, es importante señalar que se sugiere el uso de otras formas de cuantificar la expresión de estas proteínas, como puede ser el uso de técnicas moleculares como la RT-qPCR que resultan más precisas.



## 11. BIBLIOGRAFÍA

Abubakar, M., Figueroa, J., Ali, H. R., Blows, F., Lissowska, J., Caldas, C., ... & Pharoah, P. D. (2019). Combined quantitative measures of ER, PR, HER2, and KI67 provide more prognostic information than categorical combinations in luminal breast cancer. *Modern Pathology*, 32(9), 1244-1256.

Abubakar, M., Guo, C., Koka, H., Sung, H., Shao, N., Guida, J., ... & Lu, N. (2019). Clinicopathological and epidemiological significance of breast cancer subtype reclassification based on p53 immunohistochemical expression. *NPJ Breast Cancer*, 5(1), 1-9.

Abuchacra, L., Alvarado, G., Ferretti, C., Gómez, A., Paz, A. H., & Sidan, A. (2012). Relación entre la clasificación según tipos histológicos y subtipos moleculares más frecuentes de carcinoma mamario entre los años 2007 y 2012 en San Miguel de Tucumán, Argentina. *Ciencia e Investigación Médico Estudiantil Latinoamericana*, 17(2).

Ades, F., Zardavas, D., Bozovic-Spasojevic, I., Pugliano, L., Fumagalli, D., De Azambuja, E., ... & Piccart, M. (2014). Luminal B breast cancer: molecular characterization, clinical management, and future perspectives. *J Clin Oncol*, 32(25), 2794-2803.

Ahmed, A. R. H. (2016). *HER2 expression is a strong independent predictor of nodal metastasis in breast cancer. Journal of the Egyptian National Cancer Institute*, 28(4), 219-227. doi:10.1016/j.jnci.2016.09.002

Ahn, H. J., Jung, S. J., Kim, T. H., Oh, M. K., & Yoon, H. K. (2015). Differences in clinical outcomes between luminal A and B type breast cancers according to the St. Gallen Consensus 2013. *Journal of breast cancer*, 18(2), 149-159.

Alabdulkareem, H., Pinchinat, T., Khan, S., Landers, A., Christos, P., Simmons, R., & Moo, T.-A. (2017). The impact of molecular subtype on breast cancer recurrence in young women treated with contemporary adjuvant therapy. *The Breast Journal*, 24(2), 148-153. doi:10.1111/tbj.12853

Allison, K. H., Hammond, M. E. H., Dowsett, M., McKernin, S. E., Carey, L. A., Fitzgibbons, P. L., ... & Perou, C. M. (2020). Estrogen and progesterone receptor testing in breast cancer: American society of clinical oncology/college of American pathologists guideline update. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 144(5), 545-563.

Al-thoubaity Fatma Khinaifis. (2019). Molecular classification of breast cancer: A retrospective cohort study. *Annals of Medicine and Surgery*. doi:10.1016/j.amsu.2019.11.021

Aman, N. A., Doukoure, B., Koffi, K. D., Kouli, B. S., Traore, Z. C., Kouyate, M., & Effi, A. B. (2019). HER2 overexpression and correlation with other significant clinicopathologic parameters in Ivorian breast cancer women. *BMC clinical pathology*, 19(1), 1.

American Joint Committee on Cancer. (2017) Breast. In: *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th ed. New York, NY: Springer; 589.

Appert-Collin, A., Hubert, P., Crémel, G., & Bennisroune, A. (2015). Role of ErbB Receptors in Cancer Cell Migration and Invasion. *Frontiers in Pharmacology*, 6. doi:10.3389/fphar.2015.00283

Arciero, C. A., & Styblo, T. M. (2018). Clinically Established Prognostic Factors in Breast Cancer. In *The Breast* (pp. 250-257). Elsevier.

Arima, N., Nishimura, R., Osako, T., Okumura, Y., Nakano, M., Fujisue, M., ... & Toyozumi, Y. (2019). Ki-67 index value and progesterone receptor status can predict prognosis and suitable treatment in node-negative breast cancer patients with estrogen receptor-positive and HER2-negative tumors. *Oncology letters*, 17(1), 616-622.

Bai, T., & Luoh, S.-W. (2007). GRB-7 facilitates HER-2/Neu-mediated signal transduction and tumor formation. *Carcinogenesis*, 29(3), 473-479. doi:10.1093/carcin/bgm221

- Ban, K. & Godellas, C. (2014). Epidemiology of breast cancer. Elsevier Inc. *Surg Oncol Clin N Am* 23, 409-422
- Banegas, M. P., Tao, L., Altekruze, S., Anderson, W. F., John, E. M., Clarke, C. A., & Gomez, S. L. (2014). *Heterogeneity of breast cancer subtypes and survival among Hispanic women with invasive breast cancer in California. Breast Cancer Research and Treatment, 144(3), 625–634.* doi:10.1007/s10549-014-2882-1
- Beguelin, W., Diaz Flaque, M. C., Proietti, C. J., Cayrol, F., Rivas, M. A., Tkach, M., ... Elizalde, P. V. (2010). *Progesterone Receptor Induces ErbB-2 Nuclear Translocation To Promote Breast Cancer Growth via a Novel Transcriptional Effect: ErbB-2 Function as a Coactivator of Stat3. Molecular and Cellular Biology, 30(23), 5456–5472.* doi:10.1128/mcb.00012-10
- Bernet, L., Peg, V. & Hardisson, D. (2017). *Afectación ganglionar. Valor de la carga tumoral total. En factores predictivos y pronósticos en cáncer de mama. Sociedad Española de Senología y Patología mamaria. Cap. 9. p. 76-79.*
- Bivin, W. W., Yergiyev, O., Bunker, M. L., Silverman, J. F., & Krishnamurti, U. (2017). GRB7 Expression and Correlation With HER2 Amplification in Invasive Breast Carcinoma. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology, 25(8), 553–558.*
- Blows, F. M., Driver, K. E., Schmidt, M. K., Broeks, A., van Leeuwen, F. E., Wesseling, J., ... Huntsman, D. (2010). 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 Medicine, 7(5), e1000279.* doi:10.1371/journal.pmed.1000279
- Bouchalova, P., Nenutil, R., Muller, P., Hrstka, R., Appleyard, M. V., Murray, K., ... & Vojtesek, B. (2014). Mutant p53 accumulation in human breast cancer is not an intrinsic property or dependent on structural or functional disruption but is regulated by exogenous stress and receptor status. *The Journal of pathology, 233(3), 238-246.*
- Braunstein, L. Z., Taghian, A. G., Niemierko, A., Salama, L., Capuco, A., Bellon, J. R., ... & Harris, J. R. (2017). Breast-cancer subtype, age, and lymph node status as predictors of local recurrence following breast-conserving therapy. *Breast cancer research and treatment, 161(1), 173-179.*
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians, 68(6), 394-424.*
- Briskin, C. (2013). Progesterone signalling in breast cancer: a neglected hormone coming into the limelight. *Nature Reviews Cancer, 13(6), 385-396.*
- Bueno, G. A. M. (2017). 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, 34, 472-477.*
- Burstein, H. J. (2005). The distinctive nature of HER2-positive breast cancers. *New England Journal of Medicine, 353(16), 1652-1654.*
- Calvo, V., Giricz, O., & Kenny, P. (2013). Defining the GRB7 interactome in triple-negative breast cancer. [abstract]. In: Proceedings of the 104th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research; 2013 Apr 6-10; Washington, DC. Philadelphia (PA): AACR; *Cancer Res 2013;73(8 Suppl):Abstract nr 4311.* doi:10.1158/1538-7445.AM2013-4311
- Calza, S., Hall, P., Auer, G., Bjöhle, J., Klaar, S., Kronenwett, U., ... & Bergh, J. (2006). Intrinsic molecular signature of breast cancer in a population-based cohort of 412 patients. *Breast Cancer Research, 8(4), R34.*

Cancer Genome Atlas Network. (2012). Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, 490(7418), 61.

Carey, L. A., Perou, C. M., Livasy, C. A., Dressler, L. G., Cowan, D., Conway, K., ... & Deming, S. L. (2006). Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *Jama*, 295(21), 2492-2502.

Carnero, A., & Paramio, J. M. (2014). The PTEN/PI3K/AKT Pathway in vivo, *Cancer Mouse Models*. *Frontiers in Oncology*, 4. doi:10.3389/fonc.2014.00252

Carpenter, R & Lo., H.(2013). *Regulation of Apoptosis by HER2 in Breast Cancer*. *Journal of Carcinogenesis & Mutagenesis*. doi:10.4172/2157-2518.s7-003

Carter, C. L., Allen, C., & Henson, D. E. (1989). Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer*, 63(1), 181-187.

Casalini, P., Iorio, M. V., Berno, V., Bergamaschi, A., Børresen Dale, A.-L., Gasparini, P., ... Ménard, S. (2007). *Relationship between p53 and p27 expression following HER2 signaling*. *The Breast*, 16(6), 597–605. doi:10.1016/j.breast.2007.05.007

Cenciarini, M. E., & Proietti, C. J. (2019). Molecular mechanisms underlying progesterone receptor action in breast cancer: insights into cell proliferation and stem cell regulation. *Steroids*, 152, 108503.

Chang, M. C., Malowany, J. I., Mazurkiewicz, J., & Wood, M. (2012). 'Genetic heterogeneity' in HER2/neu testing by fluorescence in situ hybridization: a study of 2522 cases. *Modern pathology*, 25(5), 683-688.

Cheang, M. C., Chia, S. K., Voduc, D., Gao, D., Leung, S., Snider, J., ... & Perou, C. M. (2009). Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 101(10), 736-750.

Chen, W. Y., Rosner, B., Hankinson, S. E., Colditz, G. A., & Willett, W. C. (2011). Moderate Alcohol Consumption During Adult Life, Drinking Patterns, and Breast Cancer Risk. *JAMA*, 306(17), 1884. doi:10.1001/jama.2011.1590

Choi, N., Lee, S. W., Lim, Y., Kang, E., Kim, E. K., Kim, Y. J., ... & Ah, I. (2019). Failure Patterns between HER2-Negative and HER2-Positive Luminal B Breast Cancer.

Chu, P. Y., Tai, Y. L., & Shen, T. L. (2019). Grb7, a Critical Mediator of EGFR/ErbB Signaling, in Cancer Development and as a Potential Therapeutic Target. *Cells*, 8(5), 435.

Cidado, J., Wong, H. Y., Rosen, D. M., Cimino-Mathews, A., Garay, J. P., Fessler, A. G., ... & Zabransky, D. J. (2016). Ki-67 is required for maintenance of cancer stem cells but not cell proliferation. *Oncotarget*, 7(5), 6281.

Cilbir, E., & Yalcin, S. (2019). Clinical Aspects of Estrogen and Progesterone Receptors and ERBB2 Testing. In *Breast Disease* (pp. 143-161). Springer, Cham.

Ciriello, G., Sinha, R., Hoadley, K. A., Jacobsen, A. S., Reva, B., Perou, C. M., ... Schultz, N. (2013). The molecular diversity of Luminal A breast tumors. *Breast Cancer Research and Treatment*, 141(3), 409–420. doi:10.1007/s10549-013-2699-3

Cobleigh, M. A. (2005). Tumor Gene Expression and Prognosis in Breast Cancer Patients with 10 or More Positive Lymph Nodes. *Clinical Cancer Research*, 11(24), 8623–8631. doi:10.1158/1078-0432.ccr-05-0735

Cornen, S., Guille, A., Adelaide, J., Addou-Klouche, L., Finetti, P., Saade, M. R., ... & Raynaud, S. (2014). Candidate luminal B breast cancer genes identified by genome, gene expression and DNA methylation profiling. *PLoS one*, 9(1).

- Cubasch, H., Joffe, M., Ruff, P., Dietz, D., Rosenbaum, E., Murugan, N., ... Neugut, A. (2017). Breast conservation surgery versus total mastectomy among women with localized breast cancer in Soweto, South Africa. *PLOS ONE*, 12(8), e0182125. doi:10.1371/journal.pone.0182125
- Cuevas, S. A. R., & García, M. C. (2006). Epidemiología del cáncer de mama. *Ginecol Obstet Mex*, 74(11), 585-593.
- Cusati, M. P., de la Muela, M. H., Hernaez, D. H., Dionisio, M. C., Guindo, A. R., & de Santiago Garcia, F. J. (2014). Correlación entre la expresión de Ki67 con factores clásicos pronósticos y predictivos en el cáncer de mama precoz. *Revista de Senología y Patología Mamaria*, 27(4), 163-169.
- Dai, X., Li, T., Bai, Z., Yang, Y., Liu, X., Zhan, J., & Shi, B. (2015). Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. *American journal of cancer research*, 5(10), 2929.
- Daly, B., & Olopade, O. I. (2015). A perfect storm: How tumor biology, genomics, and health care delivery patterns collide to create a racial survival disparity in breast cancer and proposed interventions for change. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 65(3), 221–238.
- Darb-Esfahani, S., Denkert, C., Stenzinger, A., Salat, C., Sinn, B., Schem, C., ... & Weichert, W. (2016). Role of TP53 mutations in triple negative and HER2-positive breast cancer treated with neoadjuvant anthracycline/taxane-based chemotherapy. *Oncotarget*, 7(42), 67686.
- de Macêdo Andrade, A. C., Júnior, C. A. F., Guimarães, B. D., Barros, A. W. P., de Almeida, G. S., & Weller, M. (2014). Molecular breast cancer subtypes and therapies in a public hospital of Northeastern Brazil. *BMC women's health*, 14(1), 110.
- De Pradip, M. B., Dey, N., & Leyland-Jones, B. (2013). Dissecting GRB7-mediated signals for proliferation and migration in HER2 overexpressing breast tumor cells: GTP-ase rules. *American journal of cancer research*, 3(2), 173.
- Dembinski, R., Prasath, V., Bohnak, C., Siotos, C., Sebai, M. E., Psoter, K., ... & Jacobs, L. (2020). Estrogen Receptor Positive and Progesterone Receptor Negative Breast Cancer: the Role of Hormone Therapy. *Hormones & Cancer*.
- DeSantis, C. E., Fedewa, S. A., Goding Sauer, A., Kramer, J. L., Smith, R. A., & Jemal, A. (2016). Breast cancer statistics, 2015: Convergence of incidence rates between black and white women. *CA: a cancer journal for clinicians*, 66(1), 31-42.
- Di Sibio, A., Abriata, G., Forman, D., & Sierra, M. S. (2016). Female breast cancer in Central and South America. *Cancer Epidemiology*, 44, S110-S120.
- Díaz, S., Wiesner, C., Perry, F., Poveda, C. A., Carvajal, A. M., Bermúdez, J., ... & Vergel, J. C. (2019). Education for the early detection of breast cancer in Colombia. *Revista Colombiana de Cirugía*, 34(4), 329-337.
- Díaz-Redondo, T., Lavado-Valenzuela, R., Jimenez, B., Pascual, T., Gálvez, F., Falcón, A., ... & Sanchez-Muñoz, A. (2019). Different pathological complete response rates according PAM50 subtypes in HER2+ breast cancer patients treated with neoadjuvant Pertuzumab/Trastuzumab vs Trastuzumab plus standard chemotherapy: an analysis of Real World data. *Frontiers in oncology*, 9, 1178.
- Ding, N. H., Liu, C. F., Hu, C., Yuan, J. Q., Liao, W. H., & Xiao, Z. (2019). Prognostic factors for luminal B-like breast cancer. *Current medical science*, 39(3), 396-402.
- Elkablawy, M., Albasri, A., Mohammed, R., Hussainy, A., Nouh, M., & Alhujaily, A. (2016). Ki67 expression in breast cancer. Correlation with prognostic markers and clinicopathological parameters in Saudi patients. *Saudi Medical Journal*, 37(2), 137–141. doi:10.15537/smj.2016.2.12285

- Engels, C.C., Kiderlen, M., Bastiaannet, E. et al. (2016). The clinical value of HER-2 overexpression and PIK3CA mutations in the older breast cancer population: a FOCUS study analysis. *Breast Cancer. Res Treat* 156, 361–370
- Engin A. (2017) Obesity-associated Breast Cancer: Analysis of risk factors. In: Engin A., Engin A. (eds) *Obesity and Lipotoxicity. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 960. Springer, Cham
- Eroles, P., Bosch, A., Pérez-Fidalgo, J. A., & Lluch, A. (2012). Molecular biology in breast cancer: intrinsic subtypes and signaling pathways. *Cancer treatment reviews*, 38(6), 698-707.
- Esposito, A., Criscitiello, C., & Curigliano, G. (2015). Highlights from the 14th St Gallen International Breast Cancer Conference 2015 in Vienna: Dealing with classification, prognostication, and prediction refinement to personalize the treatment of patients with early breast cancer. *Ecancermedalscience*, 9.
- Evans, E. E., Henn, A. D., Jonason, A., Paris, M. J., Schiffhauer, L. M., Borrello, M. A., ... Zauderer, M. (2006). C35 (C17orf37) is a novel tumor biomarker abundantly expressed in breast cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*, 5(11), 2919–2930. doi:10.1158/1535-7163.mct-06-0389
- Fasching, P. A., Gass, P., Häberle, L., Volz, B., Hein, A., Hack, C. C., ... & Slamon, D. J. (2019). Prognostic effect of Ki-67 in common clinical subgroups of patients with HER2-negative, hormone receptor-positive early breast cancer. *Breast cancer research and treatment*, 175(3), 617-625.
- Fasolo, A., & Gianni, L. (2016). Introduction and background biology. In *Handbook of HER2-targeted agents in breast cancer* (pp. 1-13). Adis, Cham.
- Feng, Y., Spezia, M., Huang, S., Yuan, C., Zeng, Z., Zhang, L., ... & Liu, B. (2018). Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. *Genes & diseases*, 5(2), 77-106.
- Ferguson, N. L., Bell, J., Heidel, R., Lee, S., VanMeter, S., Duncan, L., ... & Orucevic, A. (2013). Prognostic value of breast cancer subtypes, Ki-67 proliferation index, age, and pathologic tumor characteristics on breast cancer survival in Caucasian women. *The breast journal*, 19(1), 22-30.
- Fernández, E., Plamero, I y Villalovo, A. (2008). Genomic organization and control of the Grb7 gene family. *Curr Genomics* 9 (1). 60-68.
- Fernández, L. (2015). implicaciones clínicas y factores predictivo-pronóstico de la quimioterapia primaria en el cáncer de mama localmente avanzado. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. Sabadell, España.
- Forsare, C., Bak, M., Falck, A. K., Grabau, D., Killander, F., Malmström, P., ... & Fernö, M. (2018). Non-linear transformations of age at diagnosis, tumor size, and number of positive lymph nodes in prediction of clinical outcome in breast cancer. *BMC cancer*, 18(1), 1226.
- Fountzilias, G., Giannoulatou, E., Alexopoulou, Z., Zagouri, F., Timotheadou, E., Papadopoulou, K., ... Kotoula, V. (2016). TP53 mutations and protein immunopositivity may predict for poor outcome but also for trastuzumab benefit in patients with early breast cancer treated in the adjuvant setting. *Oncotarget*, 7(22). doi:10.18632/oncotarget.9022
- Fragomeni, S. M., Sciallis, A., & Jeruss, J. S. (2018). Molecular Subtypes and Local-Regional Control of Breast Cancer. *Surgical Oncology Clinics of North America*, 27(1), 95–120. doi:10.1016/j.soc.2017.08.005
- Fuentes, N., & Silveyra, P. (2019). Estrogen receptor signaling mechanisms. In *Advances in protein chemistry and structural biology* (Vol. 116, pp. 135-170). Academic Press.

Furrer, D., Paquet, C., Jacob, S., & Diorio, C. (2018). The Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) as a prognostic and predictive biomarker: Molecular insights into HER2 activation and diagnostic implications. In *Cancer prognosis*. IntechOpen.

Gatza, M. L., Silva, G. O., Parker, J. S., Fan, C., & Perou, C. M. (2014). An integrated genomics approach identifies drivers of proliferation in luminal-subtype human breast cancer. *Nature genetics*, 46(10), 1051.

Giricz, O., Calvo, V., Pero, S. C., Krag, D. N., Sparano, J. A., & Kenny, P. A. (2011). GRB7 is required for triple-negative breast cancer cell invasion and survival. *Breast Cancer Research and Treatment*, 133(2), 607–615. doi:10.1007/s10549-011-1822-6

Giuliano, A. E., Edge, S. B., & Hortobagyi, G. N. (2018). of the AJCC cancer staging manual: breast cancer. *Annals of surgical oncology*, 25(7), 1783-1785.

Globocan. (2018). Breast. [archivo PDF]. Recuperado de: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/20-Breast-fact-sheet.pdf>

Globocan. (2018). Colombia. [archivo PDF]. Recuperado de: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/170-colombia-fact-sheets.pdf>

Gluz, O., Nitz, U. A., Christgen, M., Kates, R. E., Shak, S., Clemens, M., ... & Kusch, M. (2016). West German Study Group Phase III PlanB Trial: first prospective outcome data for the 21-gene recurrence score assay and concordance of prognostic markers by central and local pathology assessment. *J Clin Oncol*, 34(20), 2341-2349.

Gnant, M., Thomssen, C., & Harbeck, N. (2015). St. Gallen/Vienna 2015: a brief summary of the consensus discussion. *Breast Care*, 10(2), 124-130.

Goldhirsch, A., Winer, E. P., Coates, A. S., Gelber, R. D., Piccart-Gebhart, M., Thürlimann, B., ... & Bergh, J. (2013). 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*, 24(9), 2206-2223.

Goldhirsch, A., Wood, W. C., Coates, A. S., Gelber, R. D., Thürlimann, B., Senn, H. J., & Panel, m. (2011). 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*, 22(8), 1736-1747.

Gómez, R., Ossa, C. A., Montoya, M. E., Echeverri, C., Ángel, G., Ascuntar, J., ... & Herazo, F. (2015). Impact of immunohistochemistry-based molecular subtype on chemosensitivity and survival in Hispanic breast cancer patients following neoadjuvant chemotherapy. *Ecancermedicalscience*, 9.

Gown, A. M. (2008). Current issues in ER and HER2 testing by IHC in breast cancer. *Modern pathology*, 21(2), S8-S15

Grimm, S. L., Hartig, S. M., & Edwards, D. P. (2016). Progesterone receptor signaling mechanisms. *Journal of molecular biology*, 428(19), 3831-3849.

Han, D. C., Shen, T. L., & Guan, J. L. (2001). The Grb7 family proteins: structure, interactions with other signaling molecules and potential cellular functions. *Oncogene*, 20(44), 6315-6321.

Hanel, W., & Moll, U. M. (2012). *Links between mutant p53 and genomic instability. Journal of Cellular Biochemistry*, 113(2), 433–439. doi:10.1002/jcb.23400

Haque, R., Ahmed, S. A., Inzhakova, G., Shi, J., Avila, C., Polikoff, J., ... & Press, M. F. (2012). Impact of breast cancer subtypes and treatment on survival: an analysis spanning two decades. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 21(10), 1848-1855.

- Harbeck, N., Penault-Llorca, F., Cortes, J., Gnant, M., Houssami, N., Poortmans, P., Ruddy, K., Tsang, J., & Cardoso, F. (2019). Breast cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 5, 66
- Hashmi, A. A., Aijaz, S., Khan, S. M., Mahboob, R., Irfan, M., Zafar, N. I., ... & Khan, A. (2018). Prognostic parameters of luminal A and luminal B intrinsic breast cancer subtypes of Pakistani patients. *World Journal of Surgical Oncology*, 16(1), 1.
- Hashmi, A.A., Hashmi, K.A., Irfan, M. et al. Ki67 index in intrinsic breast cancer subtypes and its association with prognostic parameters. *BMC Res Notes* 12, 605 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4653-x>
- Henson D.E., Nsouli H.H. (2011) Lobular Involution. In: Schwab M. (eds) *Encyclopedia of Cancer*. Springer, Berlin, Heidelberg
- Hewitt, S. C., & Korach, K. S. (2018). Estrogen receptors: new directions in the new millennium. *Endocrine reviews*, 39(5), 664-675.
- Hines, L. M., Risendal, B., Byers, T., Mengshol, S., Lowery, J., & Singh, M. (2011). Ethnic Disparities in Breast Tumor Phenotypic Subtypes in Hispanic and Non-Hispanic White Women. *Journal of Women's Health*, 20(10), 1543–1550.
- Hou, Y., Nitta, H., Parwani, A. V., & Li, Z. (2020). The assessment of HER2 status and its clinical implication in breast cancer. *Diagnostic Histopathology*, 26(2), 61-68.
- Howlader, N., Altekruse, S. F., Li, C. I., Chen, V. W., Clarke, C. A., Ries, L. A. G., & Cronin, K. A. (2014). *US Incidence of Breast Cancer Subtypes Defined by Joint Hormone Receptor and HER2 Status*. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 106(5). doi:10.1093/jnci/dju055
- Huo, D., Hu, H., Rhie, S. K., Gamazon, E. R., Cherniack, A. D., Liu, J., ... Olopade, O. I. (2017). Comparison of Breast Cancer Molecular Features and Survival by African and European Ancestry in The Cancer Genome Atlas. *JAMA Oncology*, 3(12), 1654. doi:10.1001/jamaoncol.2017.0595
- Husby, A., Wohlfahrt, J., Øyen, N., & Melbye, M. (2018). Pregnancy duration and breast cancer risk. *Nature Communications*, 9(1).
- Ignatiadis, M., Rack, B., Rothé, F., Riethdorf, S., Decraene, C., Bonnefoi, H., ... Pierga, J.-Y. (2016). *Liquid biopsy-based clinical research in early breast cancer: The EORTC 90091-10093 Treat CTC trial*. *European Journal of Cancer*, 63, 97–104. doi:10.1016/j.ejca.2016.04.024
- Instituto Nacional de Cancerología ESE. (2017). *Análisis de la Situación del Cáncer en Colombia 2015*. Primera edición. Bogotá DC: Instituto Nacional de Cancerología ESE.
- Instituto Nacional de cancerología ESE. (2012). *Cáncer de mama: un problema creciente en Colombia*. Hechos & Acciones. 4 (2). 1-12
- Inwald, E. C., Klinkhammer-Schalke, M., Hofstädter, F., Zeman, F., Koller, M., Gerstenhauer, M., & Ortmann, O. (2013). Ki-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients: results of a large population-based cohort of a cancer registry. *Breast cancer research and treatment*, 139(2), 539-552.
- Iqbal, N., & Iqbal, N. (2014). Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) in cancers: overexpression and therapeutic implications. *Molecular biology international*, 2014.
- Ivshina, A. V., George, J., Senko, O., Mow, B., Putti, T. C., Smeds, J., ... & Wong, J. E. (2006). Genetic reclassification of histologic grade delineates new clinical subtypes of breast cancer. *Cancer research*, 66(21), 10292-10301.
- Jayanthi, V. S. P. K. S. A., Das, A. B., & Saxena, U. (2019). *Grade-specific diagnostic and prognostic biomarkers in breast cancer*. *Genomics*. doi:10.1016/j.ygeno.2019.03.001

- Jiang, Y. Z., Ma, D., Suo, C., Shi, J., Xue, M., Hu, X., ... & Zheng, Y. (2019). Genomic and transcriptomic landscape of triple-negative breast cancers: subtypes and treatment strategies. *Cancer cell*, 35(3), 428-440.
- Kao, J., & Pollack, J. R. (2006). RNA interference-based functional dissection of the 17q12 amplicon in breast cancer reveals contribution of coamplified genes. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 45(8), 761-769.
- Kasangian, A. A., Gherardi, G., Biagioli, E., Torri, V., Moretti, A., Bernardin, E., ... & Dazzani, M. C. (2017). The prognostic role of tumor size in early breast cancer in the era of molecular biology. *PLoS one*, 12(12), e0189127.
- Kim, J. Y., Lim, J. E., Jung, H. H., Cho, S. Y., Cho, E. Y., Lee, S. K., ... & Park, Y. H. (2018). Validation of the new AJCC eighth edition of the TNM classification for breast cancer with a single-center breast cancer cohort. *Breast Cancer Research and Treatment*, 171(3), 737-745.
- Kim, J., Lee, Y., Yoo, T., Kim, J., Hyun, J., Park, I., ... & Park, K. (2019). Organ-Specific Recurrence or Metastatic Pattern of Breast Cancer according to Biological Subtypes and Clinical Characteristics. *Journal of Breast Disease*, 7(1), 30-37.
- Koçak, A., Heselmeyer-Haddad, K., Lischka, A., Hirsch, D., Fiedler, D., Hu, Y., ... & Schäffer, A. A. (2020). High levels of chromosomal copy number alterations and TP53 mutations correlate with poor outcome in younger breast cancer patients. *The American Journal of Pathology*.
- Kondov, B., Milenković, Z., Kondov, G., Petrushevska, G., Basheska, N., Bogdanovska-Todorovska, M., ... & Ivković, L. (2018). Presentation of the molecular subtypes of breast cancer detected by immunohistochemistry in surgically treated patients. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 6(6), 961.
- Korach, K. S., Hewitt, S. C., Hamilton, K. J., Li, Y., Ramsey, J. T., Garcia, M., ... & Arao, Y. (2019). Physiological and Pathological Roles of Estrogen Receptor. In *Estrogen Receptor and Breast Cancer* (pp. 15-47). Humana Press, Cham.
- Krishnamurti, U., & Silverman, J. F. (2014). HER2 in breast cancer: a review and update. *Advances in anatomic pathology*, 21(2), 100-107.
- Kumar, P., & Aggarwal, R. (2016). An overview of triple-negative breast cancer. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 293(2), 247-269.
- Kwon, M. J., Kim, R. N., Song, K., Jeon, S., Jeong, H. M., Kim, J. S., ... & An, J. (2017). Genes co-amplified with ERBB2 or MET as novel potential cancer-promoting genes in gastric cancer. *Oncotarget*, 8(54), 92209.
- Larsen, M., Thomassen, M., Gerdes, A., & Kruse, T. (2014). Hereditary Breast Cancer: Clinical, Pathological and Molecular Characteristics. *Breast Cancer (Auckl)*. 8: 145–155.
- Lehmann, B. D., Bauer, J. A., Chen, X., Sanders, M. E., Chakravarthy, A. B., Shyr, Y., & Pietenpol, J. A. (2011). Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest*, 121(7), 2750-2767.
- Li, J., Chen, Z., Su, K., & Zeng, J. (2015). Clinicopathological classification and traditional prognostic indicators of breast cancer. *International journal of clinical and experimental pathology*, 8(7), 8500.
- Li, K., Liao, N., Chen, B., Zhang, G., Wang, Y., Guo, L., ... & Cao, L. (2020). Genetic mutation profile of Chinese HER2-positive breast cancers and genetic predictors of responses to Neoadjuvant anti-HER2 therapy. *Breast Cancer Research and Treatment*, 1-12.



- Li, X., Chen, X., Wen, L., Wang, Y., Chen, B., Xue, Y., ... & Liao, N. (2020). Impact of TP53 mutations in breast cancer: Clinicopathological features and prognosis. *Impact of TP53 mutations in breast CA. Thoracic Cancer*.
- Liang, Q., Ma, D., Gao, R.-F., & Yu, K.-D. (2020). Effect of Ki-67 Expression Levels and Histological Grade on Breast Cancer Early Relapse in Patients with Different Immunohistochemical-based Subtypes. *Scientific Reports*, 10(1). doi:10.1038/s41598-020-64523-1
- Lim, R. C. C., Price, J. T., & Wilce, J. A. (2014). Context-dependent role of Grb7 in HER2+ve and triple-negative breast cancer cell lines. *Breast Cancer Research and Treatment*, 143(3), 593–603. doi:10.1007/s10549-014-2838-5
- Linda, A., Zuiani, C., Girometti, R., Londero, V., Machin, P., Brondani, G., & Bazzocchi, M. (2010). Unusual malignant tumors of the breast: MRI features and pathologic correlation. *European journal of radiology*, 75(2), 178-184.
- Liu, Y., Yang, B., Zhang, X., Huang, Q., & Liu, H. (2020). The gene mutation spectrum of breast cancer analyzed by semiconductor sequencing platform. *Pathology & Oncology Research*, 26(1), 491-497.
- Liu, Z., Zhang, X. S., & Zhang, S. (2014). Breast tumor subgroups reveal diverse clinical prognostic power. *Scientific reports*, 4, 4002.
- Lizarraga, I., Schroeder, M. C., Weigel, R. J., & Thomas, A. (2015). Surgical management of breast cancer in 2010–2011 SEER registries by hormone and Her2 receptor status. *Annals of surgical oncology*, 22(3), 566-572.
- Loibl, S., & Gianni, L. (2017). HER2-positive breast cancer. *The Lancet*, 389(10087), 2415-2429.
- Lumachi, F., Brunello, A., Maruzzo, M., Basso, U., & Basso, S. (2013). Treatment of Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer. *Current Medicinal Chemistry*, 20(5), 596–604.
- Luoh, S. W., Wagoner, W., Wang, X., Hu, Z., Lai, X., Chin, K., ... & Ramsey, E. (2019). GRB7 dependent proliferation of basal-like, HER-2 positive human breast cancer cell lines is mediated in part by HER-1 signaling. *Molecular carcinogenesis*, 58(5), 699-707.
- Lyons, T. G., & Traina, T. A. (2019). Emerging Novel Therapeutics in Triple-Negative Breast Cancer. In *Breast Cancer Metastasis and Drug Resistance* (pp. 377-399). Springer, Cham.
- Macias, H., & Hinck, L. (2012). Mammary gland development. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 1(4), 533–557. doi:10.1002/wdev.35
- Mantovani, F., Collavin, L., & Del Sal, G. (2019). Mutant p53 as a guardian of the cancer cell. *Cell Death & Differentiation*, 26(2), 199-212.
- Marchiò, C., Annaratone, L., Marques, A., Casorzo, L., Berrino, E., & Sapino, A. (2020, February). Evolving concepts in HER2 evaluation in breast cancer: heterogeneity, HER2-low carcinomas and beyond. In *Seminars in Cancer Biology*. Academic Press.
- Marker, K. M., Zavala, V. A., Vidaurre, T., Lott, P. C., Vásquez, J. N., Casavilca-Zambrano, S., ... & Picoaga, R. L. (2020). Human Epidermal Growth Factor Receptor 2–Positive Breast Cancer Is Associated with Indigenous American Ancestry in Latin American Women. *Cancer Research*, 80(9), 1893-1901.
- Martínez, M. E., Gomez, S. L., Tao, L., Cress, R., Rodriguez, D., Unkart, J., ... & Li, C. (2017). Contribution of clinical and socioeconomic factors to differences in breast cancer subtype and mortality between Hispanic and non-Hispanic white women. *Breast cancer research and treatment*, 166(1), 185-193.

- Matsunuma, R., Watanabe, T., Hozumi, Y., Koizumi, K., Ito, Y., Maruyama, S., ... & Shiiya, N. (2020). Preoperative concurrent endocrine therapy with chemotherapy in luminal B-like breast cancer. *Breast Cancer*, 1-9.
- Mattes, M. D., Bhatia, J. K., Metzger, D., Ashamalla, H., & Katsoulakis, E. (2015). Breast Cancer Subtype as a Predictor of Lymph Node Metastasis according to the SEER Registry. *Journal of Breast Cancer*, 18(2), 143. doi:10.4048/jbc.2015.18.2.143
- McCann, K y Slamon, D. (2018). The molecular Biology of HER2 and HER2- Targeted Therapies. En Hurvitz, S y McCann, K. (Ed.), *HER2-Positive Breast Cancer (1-9)*. Los Angeles, USA. Elsevier
- McGuire K.P. (2016) Breast Anatomy and Physiology. In: Aydiner A., İğci A., Soran A. (eds) *Breast Disease*. Springer, Cham
- Mendes, D., Alves, C., Afonso, N., Cardoso, F., Passos-Coelho, J. L., Costa, L., ... Batel-Marques, F. (2015). The benefit of HER2-targeted therapies on overall survival of patients with metastatic HER2-positive breast cancer – a systematic review. *Breast Cancer Research*, 17(1).
- Miller, I., Min, M., Yang, C., Tian, C., Gookin, S., Carter, D., & Spencer, S. L. (2018). Ki67 is a graded rather than a binary marker of proliferation versus quiescence. *Cell reports*, 24(5), 1105-1112.
- Mohammed, A. A. (2019). Quantitative assessment of Ki67 expression in correlation with various breast cancer characteristics and survival rate; cross sectional study. *Annals of Medicine and Surgery*, 48, 129-134.
- Mohammed, F. Z., Gamal, L., Mosa, M. F., & Aref, M. I. (2020). The Potential Role of Ki-67 Index in the Prognosis of Breast Cancer and Its Relation to Molecular Subtypes in Egyptian Females with Breast Cancer. *Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*, 60-67.
- Mook, S., Schmidt, M. K., Viale, G., Pruneri, G., Eekhout, I., Floore, A., ... & Rutgers, E. T. (2009). The 70-gene prognosis-signature predicts disease outcome in breast cancer patients with 1–3 positive lymph nodes in an independent validation study. *Breast cancer research and treatment*, 116(2), 295-302.
- Morch, L.S., Skovlund, C.W., Hannaford, P.C., Iversen, L., Fielding, S., & Lidegaard, O. (2017). Contemporary hormonal contraception and the risk of breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 377, 2228–2239.
- Muller, P., Vousden, K. p53 mutations in cancer. *Nat Cell Biol* 15, 2–8 (2013). <https://doi.org/10.1038/ncb2641>
- Nadler, Y., González, A. M., Camp, R. L., Rimm, D. L., Kluger, H. M., & Kluger, Y. (2010). Growth factor receptor-bound protein-7 (Grb7) as a prognostic marker and therapeutic target in breast cancer. *Annals of Oncology*, 21(3), 466–473. doi:10.1093/annonc/mdp346
- Nahed, A. S., & Shaimaa, M. Y. (2016). Ki-67 as a prognostic marker according to breast cancer molecular subtype. *Cancer Biology & Medicine*, 13(4), 496. doi:10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0066
- Nencioni, A., Cea, M., Garuti, A., Passalacqua, M., Raffaghello, L., Soncini, D., ... Ballestrero, A. (2010). Grb7 Upregulation Is a Molecular Adaptation to HER2 Signaling Inhibition Due to Removal of Akt-Mediated Gene Repression. *PLoS ONE*, 5(2), e9024.
- Nicolini, A., Ferrari, P., & Duffy, M. J. (2018). Prognostic and predictive biomarkers in breast cancer: past, present and future. In *Seminars in cancer biology* (Vol. 52, pp. 56-73). Academic Press.
- Nigro, C. L., Vivenza, D., Monteverde, M., Lattanzio, L., Gojjs, O., Garrone, O., ... & Purdie, C. A. (2012). High frequency of complex TP53 mutations in CNS metastases from breast cancer. *British journal of cancer*, 106(2), 397-404.

- Nishimura, R., Osako, T., Okumura, Y., Hayashi, M., Toyozumi, Y., & Arima, N. (2010). Ki-67 as a prognostic marker according to breast cancer subtype and a predictor of recurrence time in primary breast cancer. *Experimental and therapeutic medicine*, 1(5), 747-754.
- Nofech-Mozes, S., Trudeau, M., Kahn, H. K., Dent, R., Rawlinson, E., Sun, P., ... & Hanna, W. M. (2009). Patterns of recurrence in the basal and non-basal subtypes of triple-negative breast cancers. *Breast cancer research and treatment*, 118(1), 131.
- Onitilo, A. A., Engel, J. M., Greenlee, R. T., & Mukesh, B. N. (2009). Breast cancer subtypes based on ER/PR and Her2 expression: comparison of clinicopathologic features and survival. *Clinical medicine & research*, 7(1-2), 4-13.
- Ortiz, A. P., Frías, O., Pérez, J., Cabanillas, F., Martínez, L., Sánchez, C., ... & Suárez, E. (2013). Breast cancer molecular subtypes and survival in a hospital-based sample in Puerto Rico. *Cancer medicine*, 2(3), 343-350.
- Ossa, C., Gómez, L., Ascuntar, J. & García, H. (2015). Supervivencia global y libre de enfermedad según subtipo molecular intrínseco en una cohorte de 2.200 pacientes con cáncer de mama. experiencia de un centro colombiano. *Rev Medica Sanitas*, 122-132.
- Paluch-Shimon, S., Cardoso, F., Sessa, C., Balmana, J., Cardoso, C., Gilbert, F., & Senkus, E. (2016). Prevention and screening in BRCA mutation carriers and other breast/ovarian hereditary cancer syndromes: ESMO Clinical Practice Guidelines for cancer prevention and screening. *Annals of Oncology* 27 (5): v103–v110.
- Pardo C, de Vries E, Buitrago L, Gamboa O. (2017). Atlas de mortalidad por cáncer en Colombia. Cuarta edición. Bogotá D. C. Instituto Nacional de Cancerología. v.1. p. 124.
- Pardo, C. & Cendales, R. (2015). Incidencia, mortalidad y prevalencia de cáncer en Colombia, 2007-2011. Primera edición. Bogotá. D.C. Instituto Nacional de Cancerología, v.1. p. 148
- Park, S., Koo, J. S., Kim, M. S., Park, H. S., Lee, J. S., Lee, J. S., ... & Park, B. W. (2012). Characteristics and outcomes according to molecular subtypes of breast cancer as classified by a panel of four biomarkers using immunohistochemistry. *The Breast*, 21(1), 50-57.
- Penault-Llorca, F., & Radosevic-Robin, N. (2017). Ki67 assessment in breast cancer: an update. *Pathology*, 49(2), 166-171.
- Pérez-Rodríguez, G., Aranda-Moreno, C., Olivares-Corichi, I. M., & Garcia-Sanchez, J. R. (2015). The association of subtypes of breast cancer with tumour characteristics and reproductive factors in 1326 Mexican women. *Współczesna Onkologia*, 6, 462–466. doi:10.5114/wo.2015.56652
- Perou, C. M. (2011). Molecular stratification of triple-negative breast cancers. *Oncologist*, 16.
- Perou, C. M., & Borresen-Dale, A.-L. (2010). Systems Biology and Genomics of Breast Cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(2), a003293–a003293. doi:10.1101/cshperspect.a003293
- Perou, C., Sorlie, T., Eisen, M., Rijn, M., Jeffery, S., Rees, C., Pollack, J., Ross, D., Johnsen, H., Akslen, L., Fluge, O., Pergamenschikov, A., Williams, C., Zhu, S., Lonning, P., Dale, A., Brown, P y Botstein, D. (2000). Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 406,747-752.
- Petrelli, F., Tomasello, G., Barni, S., Lonati, V., Passalacqua, R., & Ghidini, M. (2017). Clinical and pathological characterization of HER2 mutations in human breast cancer: a systematic review of the literature. *Breast cancer research and treatment*, 166(2), 339-349.
- Pitt, J. J., Zheng, Y., & Olopade, O. I. (2018). Genetic Ancestry May Influence the Evolutionary Trajectory of Cancers. *Cancer Cell*, 34(4), 529–530. doi:10.1016/j.ccell.2018.09.006

Popejoy, A. B., & Fullerton, S. M. (2016). Genomics is failing on diversity. *Nature News*, 538(7624), 161.

Prat, A., Cheang, M. C., Galván, P., Nuciforo, P., Paré, L., Adamo, B., ... & Ellis, C. (2016). Prognostic value of intrinsic subtypes in hormone receptor–positive metastatic breast cancer treated with letrozole with or without lapatinib. *JAMA oncology*, 2(10), 1287-1294.

Prat, A., Pineda, E., Adamo, B., Galván, P., Fernández, A., Gaba, L., ... & Muñoz, M. (2015). Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer. *The Breast*, 24, S26-S35.

Qiu, J., Xue, X., Hu, C., Xu, H., Kou, D., Li, R., & Li, M. (2016). Comparison of clinicopathological features and prognosis in triple-negative and non-triple negative breast cancer. *Journal of cancer*, 7(2), 167.

Rakha, E. A., Aleskandarany, M. A., Toss, M. S., Mongan, N. P., ElSayed, M. E., Green, A. R., ... & Dalton, L. W. (2018). Impact of breast cancer grade discordance on prediction of outcome. *Histopathology*, 73(6), 904-915.

Rakha, E. A., El-Sayed, M. E., Lee, A. H., Elston, C. W., Grainge, M. J., Hodi, Z., ... & Ellis, I. O. (2008). Prognostic significance of Nottingham histologic grade in invasive breast carcinoma. *Journal of clinical oncology*, 26(19), 3153-3158.

Rakha, E. A., Martin, S., Lee, A. H., Morgan, D., Pharoah, P. D., Hodi, Z., ... & Ellis, I. O. (2012). The prognostic significance of lymphovascular invasion in invasive breast carcinoma. *Cancer*, 118(15), 3670-3680.

Rakha, E.A., Reis-Filho, J.S., Baehner, F. et al. Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast Cancer Res* 12, 207 (2010). <https://doi.org/10.1186/bcr2607>

Ramsey, B., Bai, T., Hanlon Newell, A., Troxell, M., Park, B., Olson, S., ... Luoh, S.-W. (2011). GRB7 protein over-expression and clinical outcome in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 127(3), 659–669. doi:10.1007/s10549-010-1010-0

Rimawi, M. F., Schiff, R., & Osborne, C. K. (2015). Targeting HER2 for the Treatment of Breast Cancer. *Annual Review of Medicine*, 66(1), 111–128.

Rocca, A., Maltoni, R., Bravaccini, S., Donati, C., & Andreis, D. (2018). Clinical utility of fulvestrant in the treatment of breast cancer: a report on the emerging clinical evidence. *Cancer management and research*, 10, 3083.

Rojas, C. A. A., Alvarez-Bañuelos, M. T., Morales-Romero, J., Suárez-Díaz, H., Hernández-Fonseca, J. C., & Contreras-Alarcón, G. (2019). Breast cancer: Metastasis, molecular subtypes, and overweight and obesity in Veracruz, Mexico. *Clinical breast cancer*, 19(1), e166-e171.

Ross, D. S., Zehir, A., Brogi, E., Konno, F., Krystal-Whittemore, M., Edelweiss, M., ... & Baselga, J. (2019). Immunohistochemical analysis of estrogen receptor in breast cancer with ESR1 mutations detected by hybrid capture-based next-generation sequencing. *Modern Pathology*, 32(1), 81-87.

Sahlberg, K. K., Hongisto, V., Edgren, H., Mäkelä, R., Hellström, K., Due, E. U., ... & Perälä, M. (2013). The HER2 amplicon includes several genes required for the growth and survival of HER2 positive breast cancer cells. *Molecular oncology*, 7(3),392-401.

Sanpaolo, P., Barbieri, V., & Genovesi, D. (2011). Prognostic value of breast cancer subtypes on breast cancer specific survival, distant metastases and local relapse rates in conservatively managed early stage breast cancer: A retrospective clinical study. *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)*, 37(10), 876–882.

Sareyeldin, R. M., Gupta, I., Al-Hashimi, I., Al-Thawadi, H. A., Al Farsi, H. F., Vranic, S., & Al Moustafa, A.-E. (2019). Gene Expression and miRNAs Profiling: Function and Regulation in Human Epidermal

Growth Factor Receptor 2 (HER2)-Positive Breast Cancer. *Cancers*, 11(5), 646. doi:10.3390/cancers11050646

Sauter, G., Lee, J., Bartlett, J. M. S., Slamon, D. J., & Press, M. F. (2009). Guidelines for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing: Biologic and Methodologic Considerations. *Journal of Clinical Oncology*, 27(8), 1323–1333.

Schettini, F., Pascual, T., Conte, B., Chic, N., Brasó-Maristany, F., Galván, P., ... Prat, A. (2020). HER2-enriched subtype and pathological complete response in HER2-positive breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Treatment Reviews*, 101965.

Schneider, B. P., Winer, E. P., Foulkes, W. D., Garber, J., Perou, C. M., Richardson, A., ... & Carey, L. A. (2008). Triple-negative breast cancer: risk factors to potential targets. *Clinical Cancer Research*, 14(24), 8010-8018.

Scholzen, T., & Gerdes, J. (2000). The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *Journal of cellular physiology*, 182(3), 311-322.

Serrano-Gómez, S. J., Sanabria-Salas, M. C., Garay, J., Baddoo, M. C., Hernandez-Suarez, G., Mejía, J. C., ... & Zabaleta, J. (2017). Ancestry as a potential modifier of gene expression in breast tumors from Colombian women. *PLoS one*, 12(8).

Serrano-Gómez, S. J., Sanabria-Salas, M. C., Hernández-Suárez, G., García, O., Silva, C., Romero, A., ... Zabaleta, J. (2016). High prevalence of luminal B breast cancer intrinsic subtype in Colombian women. *Carcinogenesis*, 37(7), 669–676.

Sharma, G., Dave, R., Sanadya, J., Sharma, P., & Sharma, K. (2010). Various types and management of breast cancer: an overview. *J Adv Pharm Technol Red*, 1 (2): 109-216

Shen, T. L., & Guan, J. L. (2004). Grb7 in intracellular signaling and its role in cell regulation. *Front Biosci*, 9, 192-200.

Shin, H.-R., Joubert, C., Boniol, M., Hery, C., Ahn, S. H., Won, Y.-J., ... Autier, P. (2010). Recent trends and patterns in breast cancer incidence among Eastern and Southeastern Asian women. *Cancer Causes & Control*, 21(11), 1777–1785. doi:10.1007/s10552-010-9604-8

Shrestha, G., Satyal, B., & Sherpa, P. (2019). Correlation of histological grade with Estrogen, Progesterone and HER2/neu reactivity in breast cancer. *Journal of Pathology of Nepal*, 9(2), 1518-1522.

Silwal-Pandit, L., Volland, H. K. M., Chin, S.-F., Rueda, O. M., McKinney, S., Osako, T., ... Langerod, A. (2014). *TP53 Mutation Spectrum in Breast Cancer Is Subtype Specific and Has Distinct Prognostic Relevance*. *Clinical Cancer Research*, 20(13), 3569–3580. doi:10.1158/1078-0432.ccr-13-2943

Simon, S. D., Bines, J., Werutsky, G., Nunes, J. S., Pacheco, F. C., Segalla, J. G., ... & Freitas-Junior, R. (2019). Characteristics and prognosis of stage I-III breast cancer subtypes in Brazil: The AMAZONA retrospective cohort study. *The Breast*, 44, 113-119.

Singh, M., Mukundan, S., Jaramillo, M., Oesterreich, S., & Sant, S. (2016). Three-dimensional breast cancer models mimic hallmarks of size-induced tumor progression. *Cancer research*, 76(13), 3732-3743.

Sledge, G. W., Chagpar, A., & Perou, C. (2016). Collective wisdom: lobular carcinoma of the breast. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*, 36, 18-21.

Sobecki, M., Mrouj, K., Colinge, J., Gerbe, F., Jay, P., Krasinska, L., ... & Fisher, D. (2017). Cell-cycle regulation accounts for variability in Ki-67 expression levels. *Cancer research*, 77(10), 2722-2734.

Sorlie, T., Perou, C. M., Tibshirani, R., Aas, T., Geisler, S., Johnsen, H., ... & Thorsen, T. (2001). Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(19), 10869-10874.

Sorlie, T., Tibshirani, R., Parker, J., Hastie, T., Marron, J., Nobel, A., Deng, S., Johnsen, H., Pesich, R., Geisler, S., Demeter, J., Perou, C., Lonning, P., Brown, P., Borresen-Dale, A y Botstein, A. (2003) Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*. 100 (14) 8418-8423

Sotiriou, C., Wirapati, P., Loi, S., Harris, A., Fox, S., Smeds, J., ... & Desmedt, C. (2006). Gene expression profiling in breast cancer: understanding the molecular basis of histologic grade to improve prognosis. *Journal of the National Cancer Institute*, 98(4), 262-272.

Sparano, J. A., Goldstein, L. J., Childs, B. H., Shak, S., Brassard, D., Badve, S., ... & Shulman, L. N. (2011). Relationship between quantitative GRB7 RNA expression and recurrence after adjuvant anthracycline chemotherapy in triple-negative breast cancer. *Clinical Cancer Research*, 17(22), 7194-7203.

Sporikova, Z., Koudelakova, V., Trojanec, R., & Hajduch, M. (2018). Genetic markers in triple-negative breast cancer. *Clinical Breast Cancer*, 18(5), e841-e850.

Sprague, B. L., Trentham-Dietz, A., Gangnon, R. E., Ramchandani, R., Hampton, J. M., Robert, S. A., ... & Newcomb, P. A. (2011). Socioeconomic status and survival after an invasive breast cancer diagnosis. *Cancer*, 117(7), 1542-1551.

Takahashi, H., Oshi, M., Asaoka, M., Yan, L., Endo, I., & Takabe, K. (2020). Molecular Biological Features of Nottingham Histological Grade 3 Breast Cancers. *Annals of Surgical Oncology*.

Tanaka, S., Sugimachi, K., Kawaguchi, H., Saeki, H., Ohno, S., Wands, J. R., & Sugimachi, K. (2000). Grb7 signal transduction protein mediates metastatic progression of esophageal carcinoma. *Journal of cellular physiology*, 183(3), 411-415.

Thakur, P., Seam, R., Gupta, M., Gupta, M., Sharma, M., & Fotedar, V. (2017). Breast cancer risk factor evaluation in a Western Himalayan state: A case-control study and comparison with the Western World. *South Asian J Cancer*. 6(3): 106–109.

Timms, J. F., White, S. L., O'Hare, M. J., & Waterfield, M. D. (2002). Effects of ErbB-2 overexpression on mitogenic signalling and cell cycle progression in human breast luminal epithelial cells. *Oncogene*, 21(43), 6573-6586.

Trabert, B., Sherman, M. E., Kannan, N., & Stanczyk, F. Z. (2019). Progesterone and breast cancer. *Endocrine Reviews*, 41(2), bnz001.

Troester, M. A., Sun, X., Allott, E. H., Geradts, J., Cohen, S. M., Tse, C. K., ... & Hu, Z. (2018). Racial differences in PAM50 subtypes in the Carolina Breast Cancer Study. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 110(2), 176-182.

Turashvili, G. y Brogi, E. (2017). Heterogeneidad tumoral en cáncer de mama. *Fronteras en medicina*, 4, 227.

Turke, A. B., Song, Y., Costa, C., Cook, R., Arteaga, C. L., Asara, J. M., & Engelman, J. A. (2012). *MEK Inhibition Leads to PI3K/AKT Activation by Relieving a Negative Feedback on ERBB Receptors*. *Cancer Research*, 72(13), 3228–3237. doi:10.1158/0008-5472.can-11-3747

Vallejos, C. S., Gómez, H. L., Cruz, W. R., Pinto, J. A., Dyer, R. R., Velarde, R., ... Vigil, C. E. (2010). *Breast Cancer Classification According to Immunohistochemistry Markers: Subtypes and Association With Clinicopathologic Variables in a Peruvian Hospital Database*. *Clinical Breast Cancer*, 10(4), 294–300. doi:10.3816/cbc.2010.n.038

- Van Asten, K., Slembrouck, L., Olbrecht, S., Jongen, L., Brouckaert, O., Wildiers, H., ... & Paridaens, R. (2019). Prognostic value of the progesterone receptor by subtype in patients with estrogen receptor-positive, HER-2 negative breast cancer. *The oncologist*, 24(2), 165.
- Vermehren-Schmaedick, A., Mhawech-Fauceglia, P., Park, B. S., Pejovic, T., & Luoh, S. W. (2020). The prognostic significance of GRB7 protein expression and localization in human breast and ovarian cancers. *Oncotarget*, 11(24), 2273.
- Viale, G., Newell, A. E. H., Walker, E., Harlow, G., Bai, I., Russo, L., ... & Maisonneuve, P. (2019). Ki-67 (30-9) scoring and differentiation of Luminal A-and Luminal B-like breast cancer subtypes. *Breast cancer research and treatment*, 178(2), 451-458.
- Voduc, K. D., Cheang, M. C. U., Tyldesley, S., Gelmon, K., Nielsen, T. O., & Kennecke, H. (2010). Breast Cancer Subtypes and the Risk of Local and Regional Relapse. *Journal of Clinical Oncology*, 28(10), 1684–1691. doi:10.1200/jco.2009.24.9284
- Vogel, V. (2018). Epidemiology of Breast Cancer. In *The Breast (Fifth Edition) Comprehensive Management of Bening and Malignant Diseases*. Elsevier
- Walter, V., Fischer, C., Deutsch, T. M., Ersing, C., Nees, J., Schütz, F., ... & Schneeweiss, A. (2020). Estrogen, progesterone, and human epidermal growth factor receptor 2 discordance between primary and metastatic breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 1-8.
- Ward, E. M., DeSantis, C. E., Lin, C. C., Kramer, J. L., Jemal, A., Kohler, B., ... & Gansler, T. (2015). Cancer statistics: breast cancer in situ. *CA: a cancer journal for clinicians*, 65(6), 481-495.
- Welch, H. G., Prorok, P. C., O'Malley, A. J., & Kramer, B. S. (2016). Breast-cancer tumor size, overdiagnosis, and mammography screening effectiveness. *New England Journal of Medicine*, 375(15), 1438-1447.
- Wolff, A. C., Hammond, M. E. H., Allison, K., Harvey, B., Mangu, P., Barlett, J., Bilous, M., Ellis, I., Fitzgibbons, P., Hanna, W., Jenkis, R., Press, M., Spears, P., Vance, G., Viale, G., McShane, L., & Dowsett, M. (2018). Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 142
- Wu, Q., Li, J., Zhu, S., Wu, J., Li, X., Liu, Q., ... & Sun, S. (2017). HER2-positive Luminal B breast cancer according to the clinicopathological features: a population-based study from SEER program. *Int J Clin Exp Med*, 10(2), 4049-4056.
- Yamaguchi, S., Takahashi, S., Mogushi, K., Izumi, Y., Nozaki, Y., Nomizu, T., ... & Kato, S. (2018). Molecular and clinical features of the TP53 signature gene xpresión profile in early-stage breast cancer. *Oncotarget*, 9(18), 14193.
- Zhao, HB., Zhang, XF., Jia, XL y Wang, HB. (2017). Grb7 is over-expressed in cervical cancer and facilitate invasion and inhibit apoptosis in cervical cancer cell. *Pathology Research and Practice*. 213(9), 1180-1884.
- Zlobec, I., Terracciano, L., Jass, J. R., & Lugli, A. (2007). Value of staining intensity in the interpretation of immunohistochemistry for tumor markers in colorectal cancer. *Virchows Archiv*, 451(4), 763-769.