

Análisis de los factores inmunohistopatológicos (receptores hormonales, estrógenos, progesterona y ERB-2) asociados al pronóstico del cáncer de mama en la población de Barranquilla (2004- 2005)

Analysis of the immunohistopathological factors (hormonal receptors, estrogen, progesterone and ERB-2) associated to the prognosis of breast cancer in the population from Barranquilla (2004- 2005)

Luz Alba Silvera Arenas¹, Clara Cález², Patricia Camargo², Yanire Castro², Andrea Moreno², Carlos Rodríguez², Diana Villalba³, Marcos Rosillo⁴, Raúl García⁴

Resumen

Objetivo: Estudiar los patrones de expresión de los receptores de estrógenos, progestagenos y erb-2 en 85 pacientes atendidas en dos laboratorios de patología de Barranquilla. De Julio del 2004 a diciembre del 2005.

Material y metodos: Estudio Descriptivo de corte. Se utilizaron 85 muestras incluidas en parafina de pacientes con diagnóstico de cáncer de mama para lo cual, se realizaron estudios inmunohistoquímicos con técnicas de peroxidasa – antiperoxidasa, se utilizaron anticuerpos monoclonales Dako contra estrógenos, progestágenos y ebr-2.

Resultados: Se observó carcinoma in situ (4), cáncer mesenquimal (1), carcinoma lobulillar (1) y resto carcinomas ductales infiltrantes grados I, II y III. La inmunohistoquímica mostró positividad para estrógeno y progestágeno a nivel intracelular en 73 casos y negativos para erb-2, 11 fueron negativos para estrógeno y progestágeno, uno fue positivo para ebr-2.

Conclusiones: 1. El carcinoma ductal infiltrante grado II y III fue la forma histológica que se presentó con mayor frecuencia (80) casos.

2. El 88,23 % de los casos fueron estrógeno y progestágeno positivos.

3. La relación entre el componente histológico y receptores hormonales positivos, sugieren buen pronóstico.

Palabras claves: Cáncer de mama, receptores de estrógenos, receptores de progesterona, ERB-2.

Fecha de recepción: 10 de septiembre de 2007
Fecha de aceptación: 22 de octubre de 2007

¹Docente Departamento de Ciencias Básicas Médicas. Coordinador Línea Inmunohistoquímica y Matriz Extracelular, Universidad del Norte, Barranquilla (Colombia). lsilvera@uninorte.edu.co

² Estudiantes X semestre de Medicina, Universidad del Norte.

³ Médico egresado Universidad del Norte

⁴ Médicos patólogos, Línea Inmunohistoquímica y Matriz Extracelular, Universidad del Norte, Barranquilla (Colombia)

Abstract

Objectives: To study the patterns of expression of the estrogen, progesteragens and erb-2 receptors in 85 patients attended in two pathology laboratories from Barranquilla, from July 2004 to December 2005

Material and methods: This is a descriptive study of cohort. 104 cases were reviewed and 18 were excluded by lack of data. Immunohistochemistry studies with techniques of peroxidase - antiperoxidase were made, for which Dako monoclonals antibodies against estrogens, progesteragens and ebr-2 were used.

Results: Four neoplasias were classified as carcinoma in situ, one mesenchymal cancer, one lobulillar carcinoma and the others were infiltrating ductal carcinomas grade I, II and III. The immunohistochemistry studies showed positivity for estrogens and progesteragen at the intracellular level in 73 cases and negativity to erb-2, 11 were negative for both estrogen and progesteragen and one was positive to ebr-2.

Conclusions: 1. The infiltrating ductal carcinoma grades II and III were the histological presentation that appears most frequently (80) cases.

2. 88.03 % of the cases were positive for estrogens and progesteragens.

3. The relation between the histological component and the hormonal receptors positivity, suggests a good prognosis.

Key words: Breast cancer, estrogen receptors, progesteragen receptors, ERB-2, prognosis.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama afecta a un importante número de mujeres a partir de la segunda década de la vida y constituye una de las principales causas de morbimortalidad en la población mundial; diez millones de casos nuevos son detectados cada año y seis millones de personas mueren por la enfermedad (1,2,3,4). En países desarrollados, una de cada nueve mujeres desarrolla cáncer de mama a lo largo de su vida y la tercera parte de ellas muere debido a esta neoplasia (2). En los Estados Unidos de Norteamérica, 12.5% de las mujeres tiene cáncer de mama, y el 3.5% fallece anualmente. En México, la incidencia de cáncer mamario es de 18.3 por 100 mil habitantes, con edad promedio de presentación de 48 años anualmente. En Cataluña, el cáncer de mama causó la muerte a 1.015 mujeres durante 1990. El cáncer de mama constituye la primera causa de muerte en mujeres entre los 35 y 64 años de edad, lo que representa una pérdida muy alta de personas en su etapa activa laboral (5, 6).

El Instituto Nacional de Cancerología en 1995 informó que en Colombia el cáncer de seno representaba la tercera causa de muerte por tumores malignos, 9.8%, después del cáncer gástrico y el cáncer de cuello uterino. Es la segunda neoplasia maligna más frecuente en mujeres, después del cáncer de cuello uterino; además, es la mayor causa de muerte en mujeres entre los 15 y 54 años, y específicamente en Cali, según información obtenida del Registro Poblacional de Cáncer de Cali (RPCC), Departamento de Patología, Universidad del Valle. Esta neoplasia presenta la mayor incidencia por encima del cáncer de cuello uterino (7, 8).

En Barranquilla, en un estudio realizado por la Universidad Libre y la Secretaría de Salud Municipal, el cáncer de mama representó la neoplasia de mayor incidencia y prevalencia entre la mujeres de 20 a 65 años, en el 2004, seguido del cáncer de cérvix (11).

Entre los factores pronósticos importantes en el cáncer de mama se encuentran la edad de la paciente, el tamaño del tumor, el grado histológico, el subtipo histológico, la presencia de metástasis a ganglios linfáticos y la presencia de receptores hormonales estrógenos y progestágenos, que junto a algunos marcadores tumorales tipo erb2, P53 se tornan importante como factores pronósticos en los pacientes con cáncer de mama (5, 6). Estos últimos han cobrado gran relevancia en los últimos años, siendo objeto de investigaciones debido a que influyen de manera significativa en el pronóstico de la paciente y en la conducta médica que se debe seguir (9, 10).

Los marcadores tumorales parecen tener un papel fundamental en la evaluación del pronóstico del cáncer de mama. Su uso ha crecido mucho en los últimos años. Algunos marcadores tumorales, según la literatura, son importantes para predecir el pronóstico del cáncer de mama: receptores hormonales (receptores de estrógeno y receptores de progesterona), c-erb-2 y p53. Los receptores hormonales (RH) son los menos polémicos, y los tumores positivos para estos marcadores generalmente presentan menor tamaño, menor grado histológico y nuclear, una mejor respuesta a la terapia hormonal y un mejor pronóstico (10, 12, 13).

Los receptores hormonales (RH) son proteínas que se ligan a las hormonas circulantes, mediando sus efectos celulares. Son los más estudiados en carcinomas de mama. Desde que fue demostrado que el crecimiento de los carcinomas de mama es regulado por estrógenos, la presencia de receptores específicos para estrógenos en tumores mamarios y la terapia supresora de esta hormona ha producido remisión clínica en pacientes con carcinoma de ma-

ma. Los tumores que responden a la terapia hormonal expresan altos niveles de receptores de estrógeno, en cuanto que los tumores que no responden tienen niveles bajos o indetectables (14, 15, 16).

La determinación de receptores estrogénicos (RE) y de progesterona (RP) en las biopsias de carcinomas infiltrantes antes del comienzo de las medidas terapéuticas se ha hecho una práctica habitual en el tratamiento de pacientes con carcinoma de mama. La utilidad clínica de los receptores hormonales se inició en la década de los ochenta; años después se confirmó su correlación con el grado tumoral. La mayoría de los autores muestra que existe una asociación positiva entre la presencia de RH y un pronóstico más favorable (17,18,19,20,21).

MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio se revisaron 104 casos enviados para estudio a los laboratorios de patología de los Drs. Marcos Rosillo y Raúl García, en el período comprendido entre julio de 2004 y diciembre de 2005. Se descartaron 19 por falta de datos en las historias. En el estudio macroscópico se evaluó tamaño del tumor, color, ganglios locales y regionales. Para el estudio microscópico se utilizó coloración con hematoxilina-eosina para observar la morfología y clasificar las neoplasias. Para estudiar la expresión de receptores para estrógenos progestágenos y erb-2. Se realizaron estudios inmunohistoquímicos con técnicas de peroxidasas – antiperoxidasas, con el uso de anticuerpos monoclonales Dako.

RESULTADOS

De los 85 casos estudiados, cuatro neoplasias fueron diagnosticadas como carcinoma *in situ*,

una, cáncer mesenquimal, una, carcinoma lobulillar y el resto carcinomas ductales infiltrantes grados uno y dos. En los estudios inmunohistoquímicos se observó positividad

para estrógenos y progestágenos a nivel intracelular en 73 casos y negativos para erb-2, 11 fueron negativos para estrógeno y progestágeno y uno de éstos fue positivo para erb-2.

Tabla 1

Frecuencia de las pacientes con cáncer de mama según la edad de la paciente en el período comprendido entre julio de 2004 y diciembre de 2005

EDAD	Nº CASOS	DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL
20-29	3	3,52
30-39	6	7,05
40-49	22	25,88
50-59	28	33,17
60-69	9	10,58
70-79	13	17,88
80-89	3	3,52
90-99	1	1,17
Total	85	100

Tabla 2

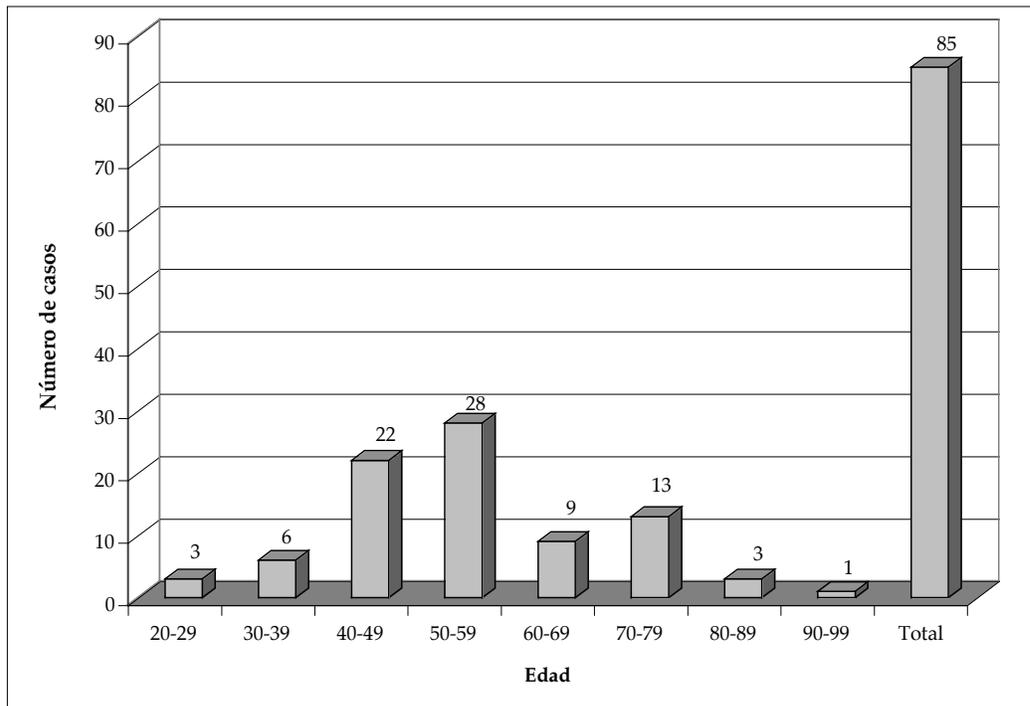
Frecuencia de las pacientes con cáncer de mama según el grado histológico en el período comprendido entre julio de 2004 y diciembre de 2005

GRADO HISTOLÓGICO	Nº CASOS	PORCENTAJE
In situ	4	4,97
Ductal II, III	79	92,94
Lobulillar	1	1,16
Mesenquimal	1	1,16
Total	85	100

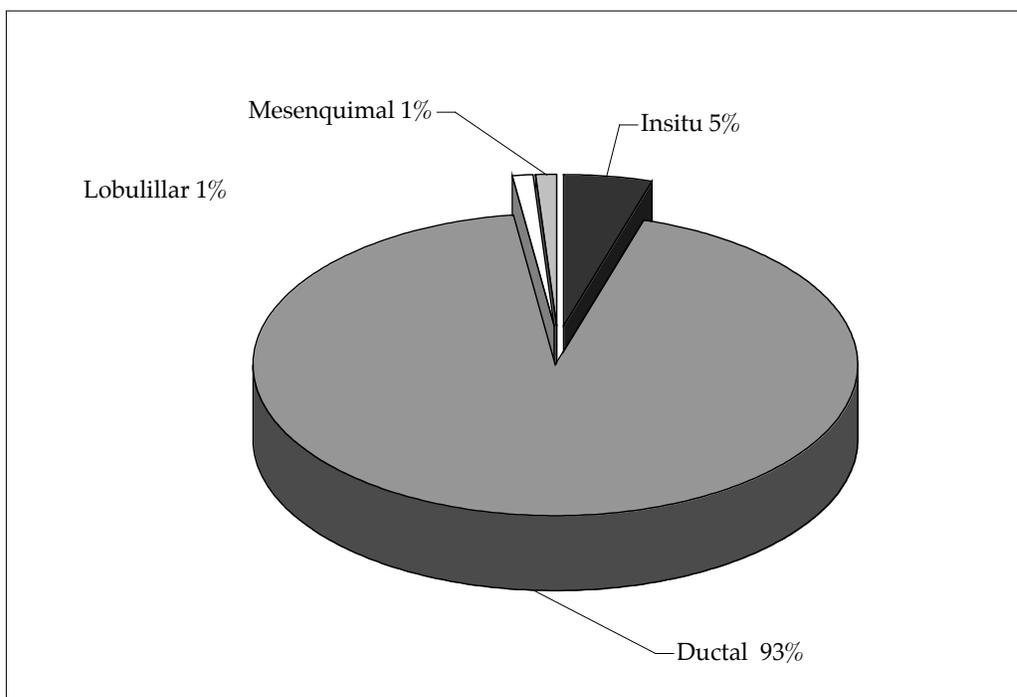
Tabla 3

Prevalencia de los receptores hormonales estrógenos, progestágenos y erb-2 en el período comprendido entre julio de 2004 y diciembre del 2005

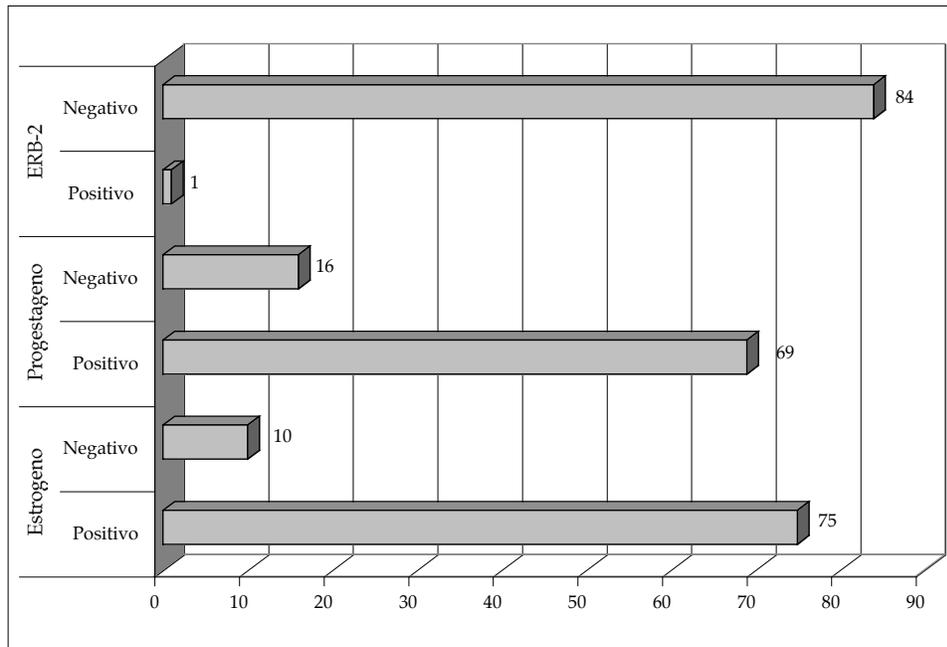
RECEPTORES	POSITIVO	NEGATIVO	Nº casos	% POS	% NEG	Total
Estrógeno	75	10	85	88,23	11,77	100%
Progestágeno	69	16	85	81,17	18,83	100%
ERB-2	1	84	85	1,16	98,84	100%



Gráfica 1. Distribución de casos por edad en mujeres reportadas en los laboratorios Barranquilla y Marcos Rosillo, julio de 2004 - diciembre de 2005



Gráfica 2. Grado histológico de cáncer de mama laboratorio patología Dr. Marcos Rosillo, julio de 2004-diciembre de 2005



Gráfica 3. Prevalencia de los receptores hormonales estrógenos, progestágeno, ERB-2 en el período comprendido entre julio de 2004 y diciembre del 2005

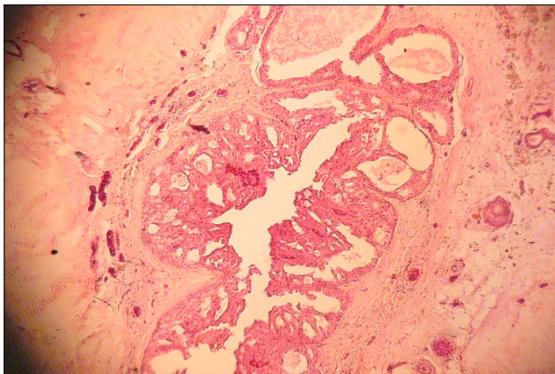


Figura 1. Carcinoma lobulillo *in situ* 4X

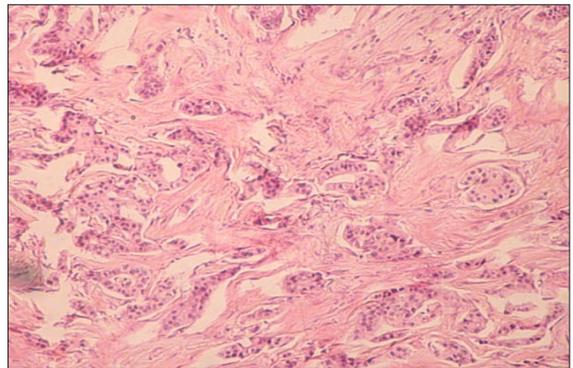


Figura 2. Carcinoma ductal infiltrante grado II

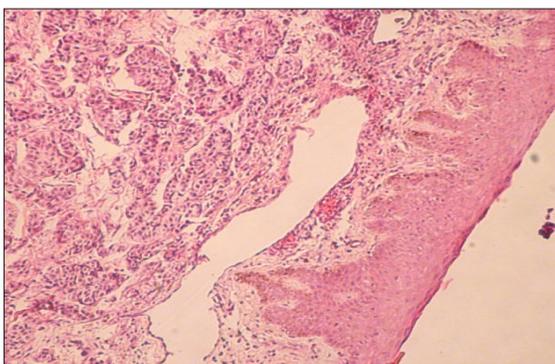


Figura 3. Carcinoma ductal Infiltrante III

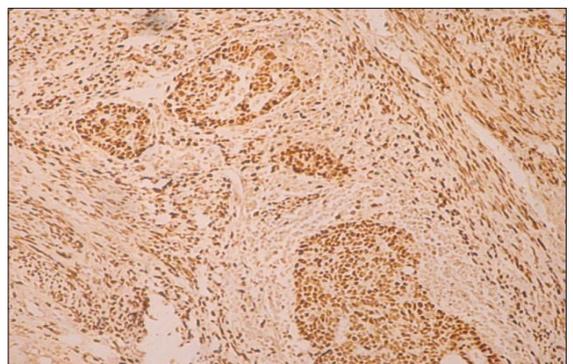


Figura 4. Estrógeno positivo.
Se observan los núcleos de color castaño oscuro

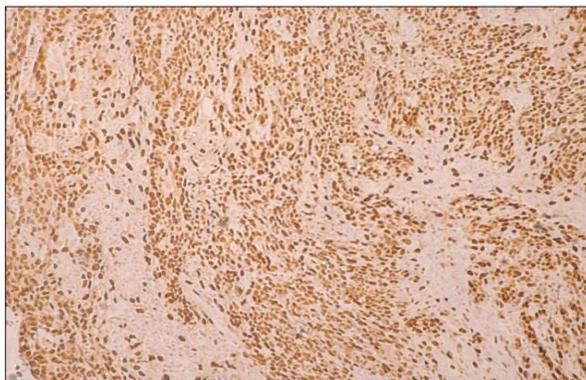


Figura 5. Progesterona positivo

Las fotos son de los pacientes estudiados.

DISCUSIÓN

El carcinoma mamario representa una enfermedad clonal. Esto indica que una única célula transformada puede generar una serie de mutaciones somáticas (adquiridas) o de la línea germinal (heredadas) es capaz de expresar todo el potencial maligno en una serie de sucesos que se producen de forma secuencial y aleatoria. Por esto, el cáncer de mama puede existir durante un largo período como enfermedad no invasora o como enfermedad invasora pero no metastásica. Este hecho conlleva a no ser diagnosticado a tiempo y tratado adecuadamente (10, 14).

Existen una serie de factores de riesgo que contribuyen al desarrollo de la enfermedad y que son determinantes en el tratamiento y pronóstico de la misma; entre ellos encontramos: predisposición genética, edad avanzada, enfermedad mamaria proliferativa, carcinoma de la mama contralateral o del endometrio, influencia geográfica, de la vida reproductiva, aumenta la probabilidad con la menarquia precoz y la menopausia tardía, es más frecuente en mujeres nulíparas, obesas, primer hijo después de los treinta, ciclos anovulatorios, entre otros (10, 28, 29).

En cuanto a la predisposición genética, los antecedentes familiares representan un factor de riesgo para el cáncer de mama; entre el 5 y el 10% de los cánceres de mama son atribuibles a la herencia de un gen autosómico dominante. La probabilidad de la herencia genética aumenta cuando son múltiples los familiares afectados y el cáncer aparece a edades tempranas. Las mutaciones de la línea germinal en los genes BRCA1, BRCA2, gen supresor tumoral p53, en un locus del cromosoma 10q y en el gen ATM (ataxia - telangiectasia) explican la mayor parte de los cánceres familiares con herencia autosómica (30, 31).

Los factores pronósticos que pueden modular la evolución clínica de las pacientes con cáncer de mama son muy variables, debido a que existen diferentes patrones de crecimiento y variadas respuestas al tratamiento sistémico. Entre éstos se encuentran: la presencia o ausencia de receptores hormonales en circulación y en los tejidos de la neoplasia, la edad de la paciente, tamaño del tumor, grado de diferenciación, si es alto o bajo, la extensión del tumor local y a distancia, presencia o ausencia de ganglios (27, 28, 32).

Los resultados muestran que la mayor incidencia y prevalencia de cáncer de mama se presentó entre los 50 a 59 años, correspondiendo al 33,17%; seguido de las pacientes de 40 a 49 años, con un 25,88% (tabla 1, gráfico 1); estas edades coinciden con la perimenopausia, menopausia y posmenopausia, momentos fisiológicos en los que más se presenta cáncer de seno. En Colombia, de acuerdo con estudios realizados por el Instituto Nacional de Cancerología, el rango de edad que presenta mayor prevalencia se encuentra entre 45 a 54 años a nivel nacional. En el municipio de Barranquilla el registro poblacional de 2004 demostró que la edad con mayor prevalencia para cáncer de mama se encuentra entre los 45 y 65 años (28, 35).

Según el subtipo histológico, el carcinoma de mama se puede clasificar en: carcinoma no infiltrante o *in situ* y carcinoma infiltrante. El carcinoma *in situ* es clasificado en ductal y lobulillar según la similitud de las estructuras afectadas, como son conductos o lobulillos respectivamente. El carcinoma infiltrante se clasifica en ductal (convencional), lobulillar, tubular/cribiforme, coloide (mucinoso), medular y papilar (10, 14).

El tipo histológico encontrado con mayor frecuencia en este estudio fue el carcinoma ductal infiltrante, grado dos y tres, siguiendo los criterios modificados de Bloom y Richardson (32, 33, 34, 35, 36). Estos autores combinan el grado nuclear, la formación de túbulos y el índice mitótico y lo clasifican en grado I, II y III. Se encuentra que más del 80% de los pacientes con grado tumoral I sobreviven 16 años, y que el 60% de las mujeres con grado II y III sobreviven el mismo tiempo. Además se encontraron otros subtipos histológicos: carcinoma *in situ*, 4 casos,

lo que equivale al 4,97% del total; lobulillar, 1 caso, 1,16% de toda la población estudiada (figuras 1, 2, 3,4).

De acuerdo con los datos suministrados por el Instituto Nacional de Cancerología en el 2003, con relación al tipo histológico, el 79% de los casos fueron carcinoma ductal infiltrante, seguido por el carcinoma coloide con un 2.5% de los casos, y el lobulillar, con 2.4% (4, 5).

La literatura ha demostrado que la supervivencia a 30 años en mujeres con algunos tipos especiales de carcinomas infiltrantes (tubular, coloide, medular, lobulillar, papilar) es superior al 60%, en comparación con la tasa menor del 20% en mujeres con carcinomas convencionales o ductales. Los carcinomas lobular y coloidal presentan un pronóstico excepcionalmente bueno. No obstante, si el tumor no tiene un tipo histológico "puro", y existen factores de mal pronóstico, como el tamaño tumoral grande, el grado nuclear alto o la afección de ganglios linfáticos, el pronóstico favorable puede estrecharse o desaparecer (30, 37).

El estudio mostró que el 88,23% de las neoplasias presentaron receptores positivos para estrógenos. Al analizar estos datos con los encontrados en otros estudios en los cuales se reporta que del 55 al 85% de los carcinomas primarios de mama, y del 45% al 55% de sus metástasis son receptores estrogénicos positivos (RE+), estos tumores se presentan con mayor frecuencia en mujeres posmenopáusicas (mayores de 50 años). También se ha demostrado que responden a la administración de terapia hormonal entre el 55 y el 60% de las mujeres con tumores RE+ y alrededor del 8% de las mujeres con receptores estrogénicos negativos (RE-) en el tumor.

Además, los tumores RE- muestran una mejor respuesta a las quimioterapias citotóxicas. Los tumores que son mejor diferenciados son más probablemente RE+ y tienen un pronóstico relativamente mejor (22, 25, 38).

Del 70 al 74% de los tumores con positividad para receptores estrogénicos regresa tras la manipulación hormonal, mientras que sólo el 5% de los tumores negativos presenta esta respuesta. Las tasas más elevadas de respuesta se observan en pacientes cuyos tumores presentan receptores para estrógenos y progesterona (21, 23, 39, 40).

En este trabajo se demostró en la población estudiada que el 81,17% de los tumores presentaron receptores progestágeno (RP) positivo. En otros estudios se ha demostrado que aproximadamente del 45 al 60% de los cánceres de mama primarios y metastáticos expresan RP. La presencia de RE y RP en el mismo tumor aumenta la probabilidad de respuesta a los tratamientos hormonales desde un 55% observado en pacientes con tumores RE+ a un 75 y 80%. Los receptores de progesterona no tan valorados como los receptores de estrógeno para predecir la conducta de los carcinomas de mama, y la pérdida de RP por las células tumorales está asociada con peor pronóstico. También se ha observado una fuerte correlación entre el grado histológico y los receptores hormonales. Es por esto que en la actualidad la determinación de RE y RP son considerados uno de los más importantes datos a ser valorados en el tumor. Sus resultados se utilizan para tomar decisiones terapéuticas y se consideran indicadores pronósticos independientes.

El erb-2, proto oncogen relacionado con un mal pronóstico en el cáncer de mama, es

considerado un gen mutagénico; se expresa en las membranas celulares de las células neoplásicas cuando se utilizan técnicas de inmunohistoquímica. Su presencia indica un alto índice mitótico y proliferación celular exacerbada, por presentar estructura semejante al factor de crecimiento epidermal. No se expresa en carcinomas *in situ* y en el 10% de los carcinomas medulares. Su expresión se relaciona con recidivas locales, a ganglios regionales y a distancia, lo que sugiere un mal pronóstico (55, 58, 59). En este estudio sólo se expresó en uno de los casos estudiados, lo que equivale al 1,16%. En la literatura es reportada su expresión entre el 10 a 20% de los casos.

CONCLUSIONES

1. La edad con mayor prevalencia encontrada en la población estudiada fue de 40 a 59 años.
2. El tipo histológico más frecuentemente encontrado fue carcinoma ductal infiltrante grado II y III, lo que coincide con la población mundial.
3. El 88,23 % de los casos fueron estrógenos y progestagenos positivos.
4. Existe una relación importante entre el componente histológico y la positividad para receptores hormonales, lo cual sugiere un buen pronóstico.

REFERENCIAS

- (1) Castro MA, Piñeros M, Martínez T. Mortalidad en el Instituto Nacional de Cancerología, Colombia, 2002. *Revista Colombiana de Cancerología* 2003; 7(3): 20-31.
- (2) Piñeros Petersen M, Pardo C, Cantor Molano LF, Hernández G, Martínez Palomino T, Pérez

- Almanza N, Serrano A, Posso H. Registro Institucional de Cáncer del INC. 2001. *Revista Colombiana de Cancerología*. 2002; 6(29): 19-30
- (4) Borrás JM, Ciuranab R, Marzoca M. Dirección General de Recursos Sanitarios. Departamento de Sanidad y Seguridad Social. Generalidad de Cataluña. CAP La Mina. Instituto Catalán de la Salud, 2002.
- (5) Jaramillo C, Bravo LE, Carrascal E, Tamayo O. Expresión de receptores hormonales frente a indicadores pronósticos en carcinoma de mama. *Colombia Médica* 2002; 33: 156-161.
- (6) Pardo C, Murillo P, Piñeros M, Castro MA. Casos nuevos de cáncer en el Instituto Nacional de Cancerología, Colombia, 2002. *Revista Colombiana de Cancerología* 2003; 7 (3): 4-19.
- (7) Norma Técnica para la detección temprana del cáncer de mama (hace parte de la resolución número 00412 de 2000).
- (8) Nicholson D. et al. Breast cancer and hormone receptors. *Austral N Zeal J. Surg.* 2000;85 (8): 637-41.
- (9) Ellis IO, Elston CW, Blamey RW. The Nottingham prognosis index (NPI) a combination of multiple prognostic factors derived from the Nottingham Tenovus primary cancer study. *Mod Pathol* 1991; 4: 11A.
- (10) Cotran R. Cáncer de mama. En *Patología Estructural y Funcional* de Robbins, 6ª ed. New York: McGraw-Hill, 2000, pp. 1137-1164.
- (11) López S, Primo O, Rada R. Una aproximación a la incidencia de cáncer en la ciudad de Barranquilla, durante 2004. *XLI Congreso Colombiano de Ciencias Biológicas*. pp. 62-63.
- (12) Lippman M. Cáncer de mama. En *Principios de Medicina Interna de Harrison*, 14ª ed. Santiago de Chile: McGraw-Hill, 1998, pp. 579-587.
- (13) Andriola A. Marcadores tumorais. *Res. Bras. Med.* 1966: 53:641-53.
- (14) Jasen P. P. Breast Pathology. In. *Diseases of the Breast*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997, pp. 48-60.
- (15) Cotes RJ, Taylor CR. Inmunohistochemical detection of steroid hormone receptors. In: Taylor CR, Cote RJ (Eds.). *Inmunomicroscopy: a diagnostic tool for the surgical pathologist*, 2ª ed. Philadelphia: W. B Saunders, 1994 (Major problems in pathology: Vol. 19 ; 912-927).
- (16) Mass H, Engle B, Trams G. Steroid hormone receptors in human breast cancer and the clinical significance. *J Steroid Biochem* 1975; 6: 743-749.
- (17) McCarty KS Jr, McCarty KS Sr. Steroid hormone receptors in the regulation of differentiation. *Am J Pathol* 1977; 86: 705-744.
- (18) Maynard PV, Davis CJ, Blamey RW et al. Relationship between estrogen-receptor content and histological grade in human primary breast tumors. *Br J Cancer* 1978; 38: 745-748.
- (19) Wittliff J. Steroid hormone receptors in breast cancer. *Cáncer* 1984; 53: 630-643.
- (20) Stanford JL, Szklo M, Brinton LA. Estrogen receptor and breast cancer. *Epidemiol Rev* 1986; 8: 42-56.
- (21) McGuire WL, Clark GM. The role of progesterone receptors in breast cancer. *Semin Oncol* 1985; 12 (Suppl): 12-16.
- (22) Wilkers C, Beck T, Weikel W, Brurmm C, Pollow K. Hormone receptors determination in breast carcinoma tissue: Comparison in resent of recent immunohistologic techniques with biochemical receptor pathologic. *Lab Invest*: 1995: 16: 256-61.
- (23) Denley H, Pinder S E, Elston CW, Lee AHS, Ellis IO. Preoperative assessment of prognostic factors in breast cancer. *J Clin Pathol* 2001; 54: 20-24.
- (24) Charalambous D, Kitchen PR, Stiwell RG, Smart PJ, Rode J. A comparison between radioligand and immunohistochemical assay of hormone receptor and primary breast cancer (abstracts). *Austral N Zeal J. Surg.* 1993: 63(8): 637-41.
- (25) Clemons M, Goss P. Estrogens and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 2001; 344: 276-285.
- (27) Elledge RM, Fuqua SAW. Estrogen and progesterone receptors. In: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK (eds.). *Diseases of the Breast*, 2ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000, pp. 471-488.

28. Allred Albain KS, DC, Clark GM. Breast cancer outcome and predictors of outcome: Are there age differentials? *Monogr Natl Cancer Inst* 2001; 16: 35-42.
- (29) Gerson R, Serrano A, Flores F et al. Edad y cáncer mamario *Rev Med Hosp Gen Mex* 1998; 61(1): 7-13.
- (30) Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24740 breast cancer cases. *Cáncer* 1989; 63: 181-187.
- (31) Page DL. Prognosis and breast cancer. Recognition of lethal and favourable prognostic types. *Am J Surg Pathol* 1991; 15: 334-349.
- (32) Palmer MK, Lythgoe JP, Smith A. Prognostic factors in breast cancer. *Br J Surg* 1982; 69: 697-698.
- (33) Bloom HJG. Prognosis in carcinoma of the breast. *Br J Cancer* 1950; 4: 259-288.
- (34) Bloom HJG, Richardson WW. Histology grading and prognosis in breast cancer: A study of 1.709 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer* 1957; 2: 353-377.
- (35) Elston CW. Grading of invasive carcinoma of the breast. In Page DL & Anderson TJ (eds.). *Diagnostic Histopathology of the Breast*. New York: Churchill Livingstone, 1987, pp. 300-311.
- (36) Elston CW, Gresham GA, Rao GS et al. The cancer research campaign (Kings/Cambridge) trial for early breast cancer-pathological aspects. *Br J Cancer* 1982; 45: 655-669.
- (37) Helpap B. Nucleolar grading of breast cancer. *Virchows Archiv A Pathol Anat* 1989; 415: 501-508.
- (38) Ciatto S, Biggeri A, Del Turco Mr et al. Risk of breast cancer subsequent to proven gross cystic disease. *Eur J Cancer* 1990; 26: 555-557.
- (39) Factores pronósticos del cáncer de mama. Dr. Jesús Javier Vera Alvarez, Servicio de Anatomía Patológica del Hospital General "San Jorge". Huesca. En: www.opolanco.es/apat/boletin13/pronostic.html
- (40) Domínguez MA, Marcos M, Meiriño E, Villafranca MT, Dueñas F, Arias E, Martínez. Factores pronósticos y predictivos en el cáncer de mama temprano. Prognostic and predictive factors in early breast cancer. En: www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol24/suple1/suple9.htm
- (41) Fisher B, Slack N, Katrich D et al. Ten years follow-up results of patients with carcinoma of the breast in a cooperative clinical trial evaluating surgical adjuvant chemotherapy. *Surg Gynecol Obstet* 1975; 140: 528-534.
- (42) Attiyeh FF, Jensen M, Huvos AG et al. Axilar micrometastases and macrometastases in carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet* 1977; 144: 839-842.
- (43) Fisher ER, Palekar A, Rockette H et al. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project (Protocol N° 4). V. Significance of axilar nodal micro- and macro-metastases. *Cancer* 1978; 42: 2032-2038.
- (44) Cutler SJ, Zipin C, Asire AJ. The prognostic significance of palpable lymph nodes in cancer of the breast. *Cancer* 1969; 23: 243-250.
- (45) Friedman S, Bertin F, Mouriesse H et al. Importance of tumour cells in axillary node sinus margins (clandestine metastases) discovered by serial sectioning in operable breast carcinoma. *Acta Oncológica* 1988; 27: 483-487.
- (46) Caceras E. An evaluation of radical mastectomy and extended radical mastectomy for cancer of the breast. *Surg Gynecol Obstet* 1967; 125: 337-341.
- (47) Fentiman IS, Lavelle MA, Caplan D et al. The significance of supraclavicular fosse node recurrence after radical mastectomy. *Cancer* 1986; 57: 908-910.
- (48) Bonadonna G. Conceptual and practical advances in the management of breast cancer. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1380-11397.
- (49) Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24740 breast cancer cases. *Cancer* 1989; 63: 181-187.
- (50) Clark GM, McGuire WL. New biologic prognostic factors in breast cancer. *Oncology* 1989; 3: 49-54.

(52) Harris JR, Lippman M, Veronesi U, Willett W. Breast cancer. *N Engl J Med* 1992; 327: 390-8.

(53) Hortobagyi GN. Treatment of breast cancer. *N Engl J Med* 1998; 339: 974-984.

(54) Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group. Systemic treatment for early breast cancer by hormonal, cytotoxic, or immune therapy: 133 randomized trials involving 31000 recurrences and 24000 deaths among 75000 women. *Lancet* 1992; 339:71-85.