

Rol del patólogo. Estudio macro y microscópico de muestras para diagnóstico y estadificación. Trabajo en diferido (a veces intraoperatorio), colaborando en abordaje terapéutico.

El informe de patología. Factores histológicos (HE)

1-Tipo de muestra (biopsia o pieza)

2-Clasificación de la lesión: ¿Carcinoma? (in situ, invasor o ambos)

3-Tipo histológico (ductal, lobulillar, otros)

4-Tumor: tamaño, N° focos y distribución

5-Grado histológico (Score combinado de Nottingham: GH GN IM)

6-Márgenes quirúrgicos (cuál comprometido)

7-Microambiente tumoral: necrosis, microcalcificaciones, desmoplasia, invasión perineural, embolias neoplásicas, TIL.

8-Hallazgos adicionales: cicatriz o granuloma (biopsia previa), marcación (clip, carbón). Piezas posneoadyuvancia.

9-Parénquima (adyacente y resto)

10-Ganglios: N° y MTS (macro, micro, ITC) ¿Cuántas? ¿Compromiso capsular/ tejidos perinodales?

11-Estadificación patológica (pTNM)

El informe de patología: Factores moleculares

12-IHQ: Receptores (RE, RP, Her2) y Ki 67.
En Her2 score 2: FISH o SISH.

13-Otras determinaciones: PDL1, TMB, MSI, BRCA 1 y 2, NTRK, RA.

Orden de patología. Constar muestra (tipo y sitio) y datos (filiatorios, clínico-imagenológicos, procedimientos y marcación previos, reparos, tamaño pre neoadyuvancia, placa en BRQ por microcalcificaciones).

1- Muestra. Sitio (mama, ganglio linfático, MTS) y tipo: citológica (PAAF) o histológica: biopsia (punción con aguja gruesa, mammotome) o pieza quirúrgica (tumorectomía, BRQ, mastectomías, etc).

2- Clasificación de la lesión y tipo de carcinoma. Clasificación histopatológica resumida (OMS)

Tumores Epiteliales Malignos: carcinoma in situ, microinvasor e invasor (infiltrante).

Lesiones Epiteliales Benignas (Proliferativas y Tumorales): Hiperplasia (usual y atípica), cambios columnares (incluso atipia epitelial plana), adenosis, papiloma intraductal, adenomas.

Tumores Fibroepiteliales: fibroadenoma, tumor Phyllodes (Benigno/ Borderline/ Maligno).

Tumores Mesenquimáticos Benignos: hemangioma, hiperplasia estromal pseudoangiomatosa (PASH), lipoma, etc.

Tumores Mesenquimáticos Malignos: sarcomas (angio, rabdomio, lipo, osteo, linfangio, otros).

Otros tumores: Neuroendócrinos, Linfomas, Metastásicos

Tipo de carcinoma: in situ o invasor

Ductal in situ (CDIS): grado bajo, intermedio y alto -según grado nuclear (1, 2, 3) y si hay o no de necrosis-. Patrón: cribiforme, sólido, micropapilar, papilar, comedo, etc.

°Lobulillar in situ (CLIS): mencionar variante, sobre todo si es pleomórfico.

°Invasor o infiltrante: infiltración estromal > 1mm (microinvasor: hasta 1mm inclusive).

3-Tipo histológico_(carcinoma invasor)

°Especial: lobulillar, mucinoso, tubular, micropapilar, etc. Con < heterogeneidad tumoral.

°NST (Not Special Type)/NOS (No Otherwise Specified): son los más frecuentes. Patrones mixtos (especificar de cada componente: %, grado y marcación) y/o patrones morfológicos sin relevancia clínica (oncocítico, rico en lípidos, rico en glucógeno, células claras, sebáceo, rasgos medulares, diferenciación neuroendócrina, pleomorfos, coriocarcinomatosos, características melanocíticas, células gigantes tipo osteoclastos).

4-Tumor: tamaño, N° focos y distribución. Tamaño en pieza: si hay más de un foco invasor estadificar según el >. Informar multifocalidad (focos separados por tejido sano) y multicentricidad (distancia entre focos > 5 cm).

5-Grado histológico. Score combinado de Nottingham (carcinoma invasor), incluye 3 elementos (otorga 1 a 3 puntos en cada uno):

°GH (% de túbulos o luces glandulares).

°GN (Pleomorfismo nuclear).

°IM (Recuento o índice mitótico): según tamaño del campo de alto poder del microscopio (en 10 campos).

-Sumando puntaje de cada uno (GH GN IM) resultan 3 grados pronósticos posibles:

°Grado 1 (3-5 puntos): Bien diferenciado.

°Grado 2 (6-7 puntos): Moderadamente diferenciado.

°Grado 3 (8 -9 puntos): Pobremente diferenciado.

Limitaciones: subestima grado en biopsia pequeña (< conteo mitótico si no incluye periferia tumoral).

6-Márgenes. Distancia del tumor al margen < (¿hay compromiso? ¿focal o difuso?). Un margen comprometido produce > recurrencia local. Margen libre (suficiente) en carcinoma invasor: no contacta con tinta china. En CDIS: dista >1mm (2mm Morrow).

7-Microambiente tumoral. Estroma con variable necrosis, desmoplasia, elastosis, invasión perineural, infiltrado linfocitario intratumoral (TIL), microcalcificaciones, embolias neoplásicas,

Esclerosis y necrosis: mal pronóstico.

-Microcalcificaciones: correlación con imágenes. Asociada o no a neoplasia. Endoluminales o estromales.

-Invasión linfovascular: embolias vasculares neoplásicas peritumorales y dérmicas.

-TILs: respuesta inmune antitumoral asociada a mejor pronóstico y respuesta a neoadyuvancia en triple (-) y Her2 (+).

Evaluados según Consenso internacional con H&E, en células

linfoplasmocitarias del estroma intratumoral. Se informa % promedio del conteo. Detalles: www.tilsinbreastcancer.org

8-Hallazgos adicionales. Cicatriz o granuloma (biopsia previa), marcación (clip o carbón -en lecho o ganglio-).

Piezas posneoadyuvancia.

Postneoadyuvancia: respuesta en lecho mamario y ganglios. Suele ser parcheada, salvo en Her2 (+) y triple (-) concéntrica (de valor pronóstico si es completa).

Es cuantificable: el método más usado (MD Anderson) calcula Carga Tumoral Residual (RCB -Residual Cancer Burden-) estableciendo clases según riesgo de recurrencia -van de 0 (respuesta patológica completa: sin carcinoma residual -admite in situ-) a III (no responde o progresa)-. Evaluada en correlación clínico-imagenológica, considera marcación previa e incluye tamaño del lecho y celularidad neoplásica residual (%), CDIS (%), N° ganglios (+) y MTS > (mm).

9-Parénquima (adyacente y resto)

10-Ganglios. N° total y N° MTS (macro o micrometástasis, ITC: células tumorales aisladas, tamaño MTS >, invasión capsular, extensión extracapsular).

Ganglios centinelas: examen intraoperatorio (hasta 3), marcan con azul patente y/o radioactividad, se completa estudio en diferido (inclusión total y niveles H-E -IHQ no es rutina-).

11- Estadificación patológica (pTNM)

12-Factores pronósticos y predictivos. Informar % e intensidad (+/++/+++) por IHQ de receptores hormonales (estrógeno y progesterona), Her2 neu e índice de proliferación Ki67 en carcinoma invasor (en in situ sólo estrógeno).

Receptores hormonales (RE, RP). Según guías ASCO-CAP son (+) si marcan en 1% o más de los núcleos y hay una nueva categoría con RE bajo (“Low ER”) si es <10% (con cualquier valor de RP).

Her2. Según guías ASCO-CAP hay 4 posibles scores (0 a 3) según % de células teñidas, patrón e intensidad de tinción de membrana:

- Score 3: >10% membrana completa, intensa.
- Score 2: >10% membrana completa, débil/moderada.
- Score 1: >10% membrana incompleta, débil.
- Score 0: sin tinción.

Patrones inusuales (ej. tinción basolateral intensa en algunos micropapilares) admiten score 2.

Score 3 es (+), Scores 0 y 1 son (-). Score 2: es dudoso, no concluyente o indeterminado y debe estudiarse con Hibridización in situ -ISH-.

Técnicas de ISH: según el microscopio FISH (fluorescencia) o SISH (óptico). Últimas guías: definen 5 grupos posibles ante un score 2 por IHQ - el resultado es indistinto si la IHQ es (-) o (+) -.

Según relación entre N° copias Her2 y N° centrómeros cromosoma 17 (Her2/cen17) y promedio N° copias Her2 por célula (Her2/célula) se

establecen 5 grupos para definir (+) al 1 y 3 -responderán a antitarget- y (-) los restantes (5, 4 y 2). Una nueva categoría “Her2 Low o bajo” agrupa Score 1 y Score 2/ISH (-), incorporando a tumores a terapia antiHer2 (antes excluidos de ella).

Ki67: índice de proliferación de implicancia pronóstica y terapéutica en tumores hormono-dependientes, con valor de corte controversial (adherimos a recomendaciones de Saint Gallen: <20% bajo y > ó =20% alto).

Conteo: 500-1000 núcleos en mínimo 3 campos de alto poder, incluyendo una zona “caliente” que en piezas suele ser la periferia tumoral.

Existen plataformas genómicas que permiten evaluar un panel de genes y calcular un score de recurrencia de la enfermedad. Las más difundidas son Oncotype (score pronóstico de 21 genes) y MammaPrint (score pronóstico de 70 genes).

Son principalmente útiles en tumores luminales en ciertos contextos clínicos. De tener acceso a ellas se puede omitir Ki67 (no obstante, es muy difundido en nuestro medio y de utilidad efectuado según recomendaciones y considerando sus limitaciones).

Categorías moleculares (definidas en correlación con biomarcadores por IHQ)

Correlacionando la histología con la IHQ para garantizar la tipificación, clasificación y marcado precisos, se aproxima a categorizar la enfermedad en 4 grupos que, a pesar de tener morfologías superpuestas, exhiben diferentes perfiles genómicos y transcriptómicos con diversas implicancias clínicas, pronósticas y terapéuticas.

-Grupo RE (+) /Her2 (-): 67% de los carcinomas son llamados luminales por expresar citoqueratinas luminales (CK5/8/18): la mayoría de los NST y también especiales (lobulillar clásico, tubular, mucinoso, papilar,

- **RE (+)/Her2 (-): Luminal like (A y B)**
RP: categoriza tumores luminales en A y B (Luminal A si RP > ó = 20%, además de Ki67 bajo). Luminales B tienen > riesgo de recurrencia y justifican quimioterapia adicional a la hormonoterapia.
- **RE (-)/ Her2 (+): (Her2 like)**
- **RE (+)/Her2 (+): Luminal-Her2 like -o Triple (+) si expresa RP-**
- **RE (-)/Her2 (-): Triple (-) si tampoco expresa RP**

neuroendócrino). Con morfología de grado bajo-intermedio (sólo 9% alto grado), pueden tener lesiones precursoras como atipia epitelial plana, hiperplasia ductal atípica y carcinomas in situ RE (+).

En esta vía un bajo grado puede evolucionar a alto, es muy frecuente la mutación en PIK3CA, y en un subgrupo en la línea germinal del gen BRCA 2.

-Grupo RE (-): morfológicamente de grado intermedio y alto, sus lesiones precursoras son el CDIS RE (-) y la adenosis microglandular. Este grupo incluye tumores Her2 (+) y (-).

°Triples (-): son un 15% y poseen un espectro de morfologías (tipos especiales como el adenoide quístico, metaplásico, apócrino, lobulillar pleomórfico) pero la mayoría son de alto grado, con alta relación núcleo-citoplasma, patrón de crecimiento sólido, margen de crecimiento no infiltrativo (“pushing”), necrosis geográfica, centro cicatrizal o acelular, conteo mitótico muy alto (y Ki67 a menudo >80%) y algunos con denso TIL (asociado con mejor respuesta al tratamiento, suelen presentar rasgos medulares). El carcinoma in situ es menos frecuente que en los tumores RE (+). Cánceres “Low RE” /Her2 (-) suelen tener histología similar.

Un 80% está representado por los “basal-like” que expresan citoqueratinas basales (CK 5-6-17) y EGFR de modo similar a la célula basal. Hay casos no esporádicos asociados a mutación de BRCA 1 que suelen tener mutada P53. Carcinomas con rasgos medulares pertenecen a este grupo.

Un grupo exhibe alterada la reparación del ADN con déficit de recombinación homóloga (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2).

No todos los basal like son triples (-) ni todos los triples (-) son basal like.

Hay carcinomas “no basal like” llamados “bajos en claudinas” (proteínas de adhesión intercelular) que son (-) para CK5 y EGFR, con fenotipo similar a la *stem cell* mamaria, con pocos marcadores epiteliales, como los carcinomas metaplásicos.

En la actualidad se han definido 6 subtipos triples (-): dos basal like (tipos 1 y 2) con compromiso de genes del ciclo celular y reparación del ADN; dos mesenquimáticos (mesenquimático y mesenquimático *stem like*) con predominio de genes de crecimiento y diferenciación celular,

un subtipo “inmunomodulador” con genes relacionados a la respuesta inmune y un subtipo LAR (luminal con expresión de receptor de andrógeno) que presenta con frecuencia mutaciones PIK3CA.

°Grupo Her2 (+): de alto grado, forma cordones o nidos (a veces células aisladas), suele asociarse a CDIS de alto grado tipo comedo.

Sus núcleos son muy pleomórficos, con citoplasmas eosinófilos de aspecto apócrino y un alto Ki67 (rango de 20-60%).

Constituye 15% de los cánceres y también puede presentar mutaciones PIK3CA además de amplificación 17q12.

13-Otras determinaciones

°**Testeo de PDL1.** Biomarcador inmunológico por IHQ para carcinoma triple (-), que permite el tratamiento con inmunomoduladores (atezolizumab o pembrolizumab).

Según la droga a emplear será la plataforma y su clon de detección, como también el modo de conteo y valor de corte. Cada droga tiene un sistema de detección no intercambiable: Atezolizumab en plataforma Ventana (clon SP142), valor de corte (+) $> \text{ó} = 1\% -\%$ de área de células inmunes (+)-. Pembrolizumab se testea con clon 22C3 (Dako) con valor de corte (+) $> \text{o} = 10$ -medido como CPS o score de positividad combinado: cuenta células neoplásicas e inmunes (+)-.

°**TMB (Tumor Mutation Burden).** Biomarcador inmunológico, mide N° mutaciones somáticas en secuencia genómica por paneles de NGS. Tienen alto TMB los triples (-) ($>$ grupo LAR) y por la gran expresión de neoantígenos, presentan $>$ respuesta inmune a Pembrolizumab.

°MSI (Inestabilidad Microsatelital). Un grupo de los triples (-) presenta déficit en reparación del ADN exhibiendo un fenotipo mutador (con alta tasa de mutación) Este grupo dMMR-MSI-H puede detectarse mediante IHQ por la ausencia de expresión de MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 y se transforma en un biomarcador inmunológico ya que presenta > respuesta inmune a Pembrolizumab.

°Mutación de BRCA en la línea germinal. Suele asociarse a BRCA 1: 56,3% triples (-) con rasgos medulares, luminales (34,4%) y Triples (+) (9,4%). Los BRCA 2 mutados tienen fenotipo luminal B, similar wild type. Estos tumores pueden recibir IPARP (Olaparib, Talazoparib).

°NTRK3. El carcinoma secretor presenta fusión ETV6-NTRK3, generando una proteína tirosina quinasa activa constitutivamente, que justifica uso de inhibidores (Larotrectinib, Entrectinib). Se diagnostica por FISH, NGS y PCR pero hoy se dispone de un marcador panTRK por IHQ.

°RA (Receptor de Andrógeno). Util en grupo LAR -triple (-) con rasgos apócrinos-, que responde a inhibidores androgénicos (Enzalutamida, Bicalutamida). La detección por IHQ se propone en *trials* con un valor de corte (+) de 10%. Un 40% además se asocia con alteraciones PIK3CA.

BIBLIOGRAFÍA

1 -Allison, K. H., Hammond, M. E. H., Dowsett, M., et al. Estrogen and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer: ASCO/CAP Guideline Update. Journal of Clinical Oncology, 2020 JCO.19.02309. doi:10.1200/jco.19.02309

2-Dowsett M, Nielsen TO, A'Hern R, et al. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer Working Group. J Natl Cancer Inst. 2011; 103(22):1656–1664.

3-Marchiò, C., Annaratone, L., Marques, A., et al. Evolving concepts in HER2 evaluation in breast cancer: heterogeneity, HER2-low carcinomas and beyond. Seminars in Cancer Biology. doi:10.1016/j.semcancer.2020.02.016

4-NCCN (National Comprehensive Cancer Network) Guidelines Invasive Breast Cancer. Version 3.2021. Biomarkers associated with FDA approved therapies.

6-Pulero C. (2018) Clasificación molecular del cáncer de mama por inmunohistoquímica. Pautas en Oncología; Diagnóstico, tratamiento y

seguimiento del cáncer. Instituto de Oncología Ángel H. Roffo. Universidad de Buenos Aires.

7- Rakha E., Ellison K., Ellis I. et al (2019). Invasive breast carcinoma: general overview. 5th Edition. World Health Organization: Lyon, France

8-Xu, B., Shen, J., Guo, W., et al. Impact of the 2018 ASCO/CAP HER2 guidelines update for HER2 testing by FISH in breast cancer. Pathology

- Research and Practice.

doi:10.1016/j.prp.2018.10.035 doi:10.1016/j.prp.2018.10.035