



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS**

**“DOCTOR IGNACIO CHÁVEZ”**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD**



**EXPRESIÓN DEL RECEPTOR DE PROLACTINA EN PACIENTES CON CÁNCER DE  
MAMA Y SU CORRELACIÓN CLÍNICO-PATOLÓGICA**

**TESIS**

PRESENTA:

MC Y P NATHALIE LIZBETH TORRES ALARCÓN

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD

ASESORES DE TESIS:

D. en C. SERGIO GUTIÉRREZ CASTELLANOS

D. en C. CARLOS CORTÉS PENAGOS

MORELIA, MICHOACÁN, NOVIEMBRE DE 2021

El comité tutorial por la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Aprobó la tesis presentada por:

**Médica Cirujana y Partera, Nathalie Lizbeth Torres Alarcón**

Doctora en Ciencias

Ma. Soledad Vázquez Garcidueñas

Doctor en Ciencias

Sergio Gutiérrez Castellanos

Doctor en Ciencias

Carlos Cortés Penagos

Doctor en Ciencias

José Miguel Cervantes Alfaro

Doctora en Ciencias

Ana Edith Higareda Mendoza

Doctora en Ciencias

María de la Luz Torner Aguilar

La Maestría en Ciencias de la Salud de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo Pertenece al Programa Nacional de Posgrados en Calidad del CONACYT

La estudiante de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo agradece al CONACYT la beca que le fue otorgada durante su realización de su tesis

Núm de becario CONACYT: 966762

Se agradece también el apoyo brindado por el Centro Estatal de Atención Oncológica (CEAO), el Hospital General Regional N°1 IMSS , Hospital General “Dr. Miguel Silva” y el Hospital Infantil de México “Federico Gómez”

al:

Departamento de Unidad de Investigaciones en Enfermedades Oncológicas y al personal involucrado agradeciendo de manera especial las atenciones y orientación de la Dra. Sara Huerta Yopez, Dra. Guillermina J. Baay Guzmán.

El presente Trabajo de Tesis se realizó en:

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Facultad de Ciencias y Biológicas

“Dr. Ignacio Chávez”

División de Estudios de Posgrado

División de Investigación Clínica CIBIMI

Hospital Infantil de México “Federico Gómez”

Unidad de Investigaciones en Enfermedades Oncológicas

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Representación esquemática de las tres isoformas del receptor de prolactina. ....</i>	<i>29</i>
<i>Figura 2. Activación de la vía de señalización Jak/Stat por unión de PRL a su receptor membranal.....</i>	<i>30</i>
<i>Figura 3. Algoritmo del diseño experimental.....</i>	<i>37</i>
<i>Figura 4. Microarreglo de tejidos con los 310 casos de Cáncer de mama (CM).....</i>	<i>40</i>
<i>Figura 5. Organigrama de la muestra total, de acuerdo a los criterios de inclusión, exclusión y eliminación.....</i>	<i>43</i>
<i>Figura 6. Distribución del cáncer de mama por grupos de edad.....</i>	<i>44</i>
<i>Figura 7. Distribución de acuerdo al índice de masa corporal (IMC).....</i>	<i>45</i>
<i>Figura 8. Distribución por edad de la primera menstruación.....</i>	<i>46</i>
<i>Figura 9. Distribución por edad del primer embarazo.....</i>	<i>47</i>
<i>Figura 10. Distribución de lactancia por meses.....</i>	<i>47</i>
<i>Figura 11. Distribución del cáncer de mama por grado histológico.....</i>	<i>48</i>
<i>Figura 12. Clasificación molecular del cáncer de mama.....</i>	<i>49</i>
<i>Figura 13. Distribución del cáncer de mama por estadio clínico.....</i>	<i>50</i>
<i>Figura 14. Estandarización de la inmunohistoquímica en tejido de cáncer de mama con Bcl-xL.....</i>	<i>51</i>
<i>Figura 15. Estandarización de la inmunohistoquímica en tejido de intestino con Ki67.....</i>	<i>52</i>
<i>Figura 16. Expresión del PRLR en corte histológico de cáncer de mama.....</i>	<i>53</i>
<i>Figura 17. Relación entre la expresión de PRLR con el grado histológico.....</i>	<i>56</i>
<i>Figura 18. Curva de supervivencia global en pacientes con cáncer de mama de acuerdo a la expresión de PRLR.....</i>	<i>57</i>

## ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Sistema de estadificación SBR.....</i>	<i>20</i>
<i>Tabla 2. Clasificación molecular del cáncer de mama .....</i>	<i>23</i>
<i>Tabla 3. Asociación de la expresión de PRLR con parámetros clínico patológicos.....</i>	<i>54</i>

## LISTA DE ABREVIATURAS

TNM	Sistema de estadificación del cáncer
PRLR	Receptor de prolactina
SBR	Scarff-Bloom- Richardson
HER2	Receptor del factor de crecimiento epidérmico humano
RE	Receptor de estrógeno
RP	Receptor de progesterona
PRL	Prolactina
MPD	Mieloproliferativo
STAT	Proteína transductora de señales y activadora de la transcripción
CDIS	Carcinoma ductal <i>in situ</i>
CLIS	Carcinoma lobulillar <i>in situ</i>
Bcl-xL	B-cell lymphoma-extra large
BRCA1	Breast Cancer 1
BRCA2	Breast Cancer 2
PTEN	Fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato 3-fosfatasa
RT-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa acoplada a la transcriptasa inversa
GM-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos
EGF	Factor de crecimiento epidérmico
SOCS	Familia de proteínas supresoras de la señalización por citocinas
PIAS	Familia de proteínas inhibidoras de la activación de STAT
JAK	Janus quinasa
Eprl	Prolactina extrahipofisiaria
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
EMT	Transición epitelial-mesenquimal
TGFβR	Factor de crecimiento transformante β

TMA	Microarreglo tisular
IMC	Índice de masa corporal
NHE1	Intercambiador Na/H

## ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	13
II. ANTECEDENTES.....	16
Anatomía de la glándula mamaria.....	16
Fisiología de la glándula mamaria.....	16
Historia natural del cáncer.....	17
Factores de riesgo del cáncer de mama.....	17
1° Factores genéticos.....	18
2° Antecedentes personales y familiares de cáncer de mama.....	18
3° Exposición a radiación ionizante.....	18
4° Factores hormonales y reproductivos.....	18
5° Hormonas terapéuticas o exógenas de estrógenos.....	18
6° Obesidad.....	19
Factores protectores.....	19
1° Lactancia materna.....	19
2° Actividad física.....	19
Clasificación histológica del cáncer de mama.....	19
Clasificación del grado histológico Scarff-Bloom- Richardson (SBR).....	20
Receptores hormonales.....	21
Clasificación molecular del cáncer de mama.....	22
Clasificación TNM.....	23
Tratamiento del cáncer de mama.....	24
Cirugía.....	24
Tratamiento sistémico adyuvante (hormonoterapia ± quimioterapia ± trastuzumab).....	25
Factores pronósticos y predictivos en cáncer de mama.....	27
PRL Y PRLR.....	27
Receptor de prolactina (PRLR) y su asociación a cáncer de mama.....	31
III. JUSTIFICACIÓN.....	35
IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	36
V. HIPÓTESIS.....	36
VI. OBJETIVO GENERAL.....	36
VII. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	36

<i>Diseño experimental</i> .....	37
VIII. MATERIAL Y MÉTODOS.....	38
8.1 <i>Diseño del estudio</i> .....	38
8.2 <i>Universo de trabajo</i> .....	38
8.3 <i>Criterios de inclusión</i> .....	38
8.4 <i>Criterios de exclusión</i> .....	38
8.5 <i>Criterios de eliminación</i> .....	38
8.6 <i>Procedimiento</i> .....	38
8.6.1 <i>Montaje del microarreglo de tejidos</i> .....	39
8.6.2 <i>Inmunohistoquímica para la detección de PRLR</i> .....	40
8.6.3 <i>Evaluación de la técnica inmunohistoquímica</i> .....	41
8.6.4 <i>Análisis Estadístico</i> .....	41
IX. CONSIDERACIONES ÉTICAS .....	42
X. RESULTADOS .....	43
10.1 <i>Estadística descriptiva de la población de estudio</i> .....	43
1. <i>Objetivo. Clasificar los casos de cáncer de mama por tipo histológico, molecular y TNM. ..</i>	48
10.1.1 <i>Evolución clínica</i> .....	50
2. <i>Objetivo. Analizar la expresión de PRLR en muestras histológicas de pacientes con cáncer de mama</i> .....	50
2a) <i>Estandarización de la inmunohistoquímica</i> .....	50
2b) <i>Inmunohistoquímica PRLR</i> .....	53
3. <i>Objetivo. Correlacionar la expresión de STAT5 y PRLR con tipo histológico, molecular, TNM y estado clínico de las pacientes</i> .....	54
3a) <i>Asociación de la expresión de PRLR con tipo histológico</i> .....	54
3b) <i>Asociación de la expresión de PRLR con grado histológico</i> .....	55
3c) <i>Asociación de la expresión de PRLR con el subtipo molecular</i> .....	56
3d) <i>Asociación de la expresión de PRLR con el estadio clínico</i> .....	56
3e) <i>Asociación de la expresión de PRLR con el estado actual de la paciente</i> .....	56
3f) <i>Análisis de la supervivencia global en relación a PRLR</i> .....	57
XI. DISCUSIÓN.....	58
XII. CONCLUSIONES.....	63
XIII. PERSPECTIVAS .....	64
BIBLIOGRAFÍA.....	65

## RESUMEN

El cáncer de mama es el tumor maligno más frecuente en mujeres a nivel mundial, representando el 16% del total de casos con cáncer. Es bien conocida la función del receptor de prolactina (PRLR) en la proliferación y diferenciación de la glándula mamaria normal; sin embargo, existe controversia respecto a su participación en la oncogénesis mamaria. Se ha encontrado asociado con tumores bien diferenciados y de buen pronóstico. El objetivo del presente estudio fue asociar la expresión de PRLR con el tipo histológico, molecular, TNM (sistema de estadificación del cáncer) y estado clínico de pacientes con cáncer de mama. El PRLR se determinó mediante inmunohistoquímica en microarreglos tisulares de biopsias en 310 casos de cáncer de mama. La edad media al diagnóstico fue de 54.1 años (rango 25-89). El estadio clínico IIA fue el más frecuente con un total de 88 casos (28.5%), seguido por el estadio IIB con 65 casos (21%). El tipo histológico más frecuente fue el carcinoma ductal infiltrante (86.9%), de acuerdo al SBR, el grado histológico predominante fue el moderadamente diferenciado (55%), seguido del indiferenciado (24%). En cuanto a la clasificación molecular, el tipo más frecuente fue el Luminal B HER2 negativo (32.7%), el de menor expresión Luminal B HER2 positivo (7.8%). Al analizar la expresión de PRLR en relación al tipo histológico no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P = 0.18$ ); sin embargo, en relación al grado histológico si hubo significancia estadística ( $P = 0.04$ ). La relación entre la expresión de PRLR con tipo molecular y estadio clínico no se encontró significancia estadística ( $P=0.97$  y  $P=0.45$ ). Los resultados sugieren que PRLR podría utilizarse como marcador de buen pronóstico en las pacientes con cáncer de mama, al expresarse principalmente en tumores bien diferenciados.

**Palabras Clave:** Cáncer de mama, estadio clínico, subtipo molecular, SBR, PRLR.

## ABSTRACT

Breast cancer is the most frequent malignant tumor in women worldwide, accounting for 16% of all cancer cases. The role of the prolactin receptor (PRLR) in the proliferation and differentiation of the normal mammary gland is well known; however, there is controversy regarding its involvement in breast oncogenesis. It has been found to be associated with well-differentiated tumors with good prognosis. The aim of the present study was to associate PRLR expression with histologic type, molecular, TNM (cancer staging system) and clinical status of breast cancer patients. PRLR was determined by immunohistochemistry on tissue microarrays from biopsies in 310 breast cancer cases. The mean age at diagnosis was 54.1 years (range 25-89). Clinical stage IIA was the most frequent with a total of 88 cases (28.5%), followed by stage IIB with 65 cases (21%). The most frequent histological type was infiltrating ductal carcinoma (86.9%), according to SBR, the predominant histological grade was moderately differentiated (55%), followed by undifferentiated (24%). In terms of molecular classification, the most frequent type was Luminal B HER2 negative (32.7%), the least expressed was Luminal B HER2 positive (7.8%). When analyzing PRLR expression in relation to histologic type, no statistically significant differences were found ( $P = 0.18$ ); however, in relation to histologic grade there was statistical significance ( $P = 0.04$ ). The relationship between PRLR expression with molecular type and clinical stage was not statistically significant ( $P=0.97$  and  $P=0.45$ ). The results suggest that PRLR could be used as a good prognostic marker in breast cancer patients, as it is mainly expressed in well-differentiated tumors.

**Key words:** Breast cancer, clinical stage, molecular subtype, SBR, PRLR.

## I. INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es el tumor maligno más frecuente en las mujeres a nivel mundial y representa 16% de los tumores malignos diagnosticados. En 2017 se reportó una incidencia en mujeres de 252 mil 710 casos en todo el mundo (Frenk *et al.*, 2002; Siegel *et al.*, 2018), 458 mil mujeres fallecen cada año por este motivo, lo que significa que cada minuto una mujer en el mundo pierde la vida debido a esta enfermedad; 69% del total de muertes se presentan en países en vías de desarrollo, donde la mayoría de los casos se diagnostican en fases avanzadas, dificultando su tratamiento exitoso. En México, la tasa de mortalidad observada por tumor maligno de mama ha tenido una tendencia al alza en el periodo de 2011 a 2016; siendo el año 2016 donde se ubicó la tasa más alta, con 16 defunciones por cada 100 000 mujeres mayores de 20 años. Las entidades con mayor mortalidad por cáncer de mama son: Sonora (28.6), Nuevo León (26), Coahuila (25.7), Chihuahua (24.8), Cd. México (24.8) y Sinaloa (22.2) (CNEGSR, 2016; OMS, 2019). En el año 2018 se identificaron 27 mil 283 casos nuevos de cáncer de mama en México, con lo que se trata de la neoplasia más frecuente entre las mexicanas (GLOBOCAN, 2018).

La edad promedio de presentación de los casos de cáncer de mama es de 54.9 años, la incidencia más alta con el número de casos se registra en el grupo de 50 a 59 años con el 45% de todos los casos ((CNEGSR, 2016; INEGI, 2019).

La supervivencia por causa específica a cinco años para cáncer de mama en etapa local, regional y distante en las mujeres hispanas es de 96%, 85% y 32% respectivamente. Algunos tipos de cáncer de mama son más agresivos que otros. Las tasas de supervivencia a cinco años tienden a ser más bajas para las mujeres diagnosticadas con cáncer de mama triple negativo (ACS, 2012).

La acelerada transición demográfica, así como la transición epidemiológica y nutricional que vive el país, hace susceptible a la población de presentar diversos factores de riesgo para cáncer, como son el envejecimiento, el consumo bajo de frutas y vegetales, entre otros, lo que puede conllevar al incremento en el número de casos y fallecimientos debidos a neoplasias malignas. En el caso del cáncer de mama, en el cual se prevén incrementos durante la presente década, el principal factor de riesgo es el sexo femenino, siendo relevante ya que la relación hombre-mujer ha descendido durante los últimos años, superando para el 2015 la población femenina por más de tres millones a la población masculina, así mismo la edad es un factor de riesgo, en México las mujeres con cáncer de mama tienen en promedio 11 años menos que las mujeres estadounidenses o europeas (51 años vs 62 años) (Sifuentes-Alvarez *et al.*, 2015), la mortalidad se incrementa a partir de los 55 años en población mexicana (Reynoso-Noverón & Torres-Domínguez, 2017).

El cáncer de mama es un grupo heterogéneo de enfermedades con un comportamiento clínico muy variable. Los patólogos han reconocido durante mucho

tiempo esta diversidad a nivel morfológico y se refleja en los diversos tipos histológicos especiales de cáncer de mama con sus características microscópicas distintivas. Sin embargo, entre el 70 y el 80% del cáncer de mama pertenece al tipo histológico ductal infiltrante, que, en lugar de representar una entidad única, muestra una marcada heterogeneidad con respecto a la morfología tumoral, biología molecular subyacente y pronóstico.

El diagnóstico temprano y las nuevas terapias para el cáncer de mama han llevado a mejorar la supervivencia. No obstante, determinar el riesgo de recurrencia distante continúa siendo un reto mayor. Este riesgo tradicionalmente se ha evaluado usando factores clinicopatológicos como la edad de la paciente, el estado de los ganglios, el tamaño del tumor y el tipo histológico. La información de la expresión génica se está usando actualmente en combinación con los factores clinicopatológicos para definir los subtipos del cáncer de mama y predecir este riesgo con mayor exactitud.

La elaboración de perfiles de expresión génica usando análisis de algoritmo de agrupamiento ha llevado a la identificación de subtipos intrínsecos de cáncer de mama, los cuales están asociados con patrones únicos de metástasis y diferencias notables en la tasa de supervivencia. A la fecha se han caracterizado cuatro subtipos intrínsecos: luminal A, luminal B, HER2-enriquecido, y triple negativo (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019). Los subtipos luminales generalmente están asociados con una mayor supervivencia global que los subtipos HER2 y triple negativo.

El objetivo principal del manejo oncológico moderno es la medicina personalizada, con una determinación más precisa del pronóstico del paciente basado en la biología tumoral y las aberraciones moleculares subyacentes que impulsan el crecimiento de tumores individuales. Existe poco conocimiento de los factores moleculares que incrementan la oncogénesis del cáncer de mama. Entre estos se encuentran las proteínas transductoras de señales y activadoras de la transcripción (STAT) (Walker *et al.*, 2009). Una variedad de tumores sólidos, leucemias y trastornos mieloproliferativos (MPD) se caracterizan por la presencia de STAT5, participando en la supervivencia y proliferación celulares (Hennighausen & Robinson, 2008).

La prolactina es la principal citocina desencadenante de la activación fisiológica de STAT5 a través del PRLR en la glándula mamaria, al final del embarazo y durante la lactancia. STAT5 estimula los genes anti-apoptóticos, como Bcl-xL y también los genes que codifican proteínas que se encuentran en la leche, como la beta-caseína y la proteína ácida del suero; se ha encontrado activa en tumores de mama sensibles a hormonas, RE+ (receptor de estrógeno), RP+ (receptor de progesterona). Se ha demostrado que la ruta PRL-PRLR-STAT5 impide la invasión de las células tumorales, por lo que parece contribuir a tumores menos agresivos (Walker *et al.*, 2009; Hachim *et al.*, 2019).

La terapia contra el cáncer puede desencadenar una reacción inflamatoria importante. La radioterapia y algunas quimioterapias causan la muerte de células tumorales, que a su vez lleva a una respuesta inflamatoria sistémica capaz de estimular la presentación de antígenos tumorales (Jacobo Velázquez *et al.*, 2017). Lo anterior destaca la importancia de una terapia individualizada de acuerdo a las características biológicas del tumor, por lo consiguiente evitar efectos adversos, entre los cuales destaca la progresión tumoral y toxicidad innecesaria.

## II. ANTECEDENTES

### **Anatomía de la glándula mamaria**

El primer indicio de las glándulas mamarias es un engrosamiento a manera de banda de la epidermis, la línea mamaria o cresta mamaria, en el embrión de siete semanas, se extiende a ambos lados del cuerpo desde la base de la extremidad superior hasta la región de la extremidad inferior. Hacia el final de la vida intrauterina, los brotes epiteliales se canalizan y forman los conductos galactóforos, mientras que los esbozos constituyen los conductos de menor calibre y los alveolos de la glándula (González & Ugalde, 2012).

La glándula mamaria se encuentra revestida por un epitelio escamoso queratinizado, al profundizar a la mama se transforma en epitelio cúbico de doble capa que tapiza los conductos, la ramificación sucesiva de los conductos grandes acaba conduciendo a la unidad lobulillar de los conductos terminales. En las mujeres adultas el conducto terminal se ramifica en un grupo de acinos pequeños para formar un lobulillo. Los conductos y los lobulillos están tapizados por dos tipos de células: las células mioepiteliales contráctiles con miofilamentos se disponen como una malla sobre la membrana basal, esas células ayudan a la eyección de la leche durante la lactancia, proporcionan soporte estructural a los lobulillos. Por otro lado, las células epiteliales lumbinales, se superponen a las células mioepiteliales, sólo las células lumbinales lobulillares son capaces de producir leche. También existen dos tipos de estroma mamario. El estroma interlobulillar corresponde a un tejido conjuntivo fibroso denso mezclado con tejido adiposo. El estroma intralobulillar rodea a los acinos de los lobulillos y está constituido por células similares a los fibroblastos con respuesta hormonal, específica de la mama y mezcladas con linfocitos diseminados (Kumar, *et al.*, 2010).

### **Fisiología de la glándula mamaria**

La función principal de la mama durante la gestación es prepararse para la producción de leche; la proporción adecuada de progesterona y estrógenos, son factores que causan el desarrollo y aumento de volumen de la mama. La adenohipófisis contribuye a la preparación de la mama para la producción de leche, por medio de la liberación de prolactina que en conjunto con los estrógenos, estimulan el crecimiento de los conductos galactóforos y alveolos.

En términos generales, se acepta que el factor más importante en el desarrollo de la mama está determinado por las hormonas ováricas, somatotropina y prolactina, las glándulas mamarias experimentan cambios cíclicos que dependen del mismo mecanismo que controla el ciclo menstrual. Después de la menstruación el aumento progresivo de los estrógenos, favorece la proliferación y desarrollo de las células ductales y lobulillares. Durante la fase secretora del ciclo menstrual, bajo la influencia

de la progesterona, aumenta la proliferación de la estructura de los conductos terminales y existe vacuolización y aumento de la actividad mitótica de las células epiteliales basales. Las células del estroma proliferan y, además existe edema del estroma. Este efecto del estrógeno y progesterona sobre los elementos intralobulillares de la mama son la causa de la sensación de tumefacción que experimentan las mujeres en la fase premenstrual del ciclo. Cuando ocurre la menstruación, la caída de los niveles del estrógeno y progesterona va seguida de la descamación de células epiteliales, atrofia del tejido conectivo intralobulillar, desaparición del edema del estroma, y de una disminución generalizada del tamaño de los conductos.

Solo al comienzo del embarazo la glándula mamaria completa su maduración y su actividad funcional.

Durante el climaterio la mama sufre de manera progresiva, la carencia de actividad hormonal. Los lobulillos pueden llegar a desaparecer en la mujer senil, dejando solo conductos para formar un patrón similar al del hombre. En muchas ocasiones queda suficiente estímulo estrogénico posiblemente de origen suprarrenal o de conversión periférica, para mantener los vestigios de los lobulillos (Frenk, *et al.*, 2002).

### **Historia natural del cáncer**

El origen del cáncer se relaciona con alteraciones en oncogenes, genes supresores tumorales y microRNAs. Estas alteraciones son eventos somáticos, aunque mutaciones germinales pueden predisponer a una persona al cáncer hereditario o familiar. Un solo cambio genético rara vez es suficiente para el desarrollo de un tumor maligno. La mayor parte de la evidencia respalda a múltiples alteraciones secuenciales en varios o incluso muchos oncogenes, genes supresores tumorales y microRNAs de células neoplásicas. Los tumores frecuentemente poseen clones citogenéticamente diferentes que surgen de la transformación mediante alteraciones genéticas secundarias o terciarias de una célula inicial. Esta heterogeneidad contribuye a las diferencias en el comportamiento clínico y respuesta al tratamiento en un mismo tipo tumoral. Además del clon inicial y subclones, los tumores también pueden contener células neoplásicas progenitoras, que constituyen un espectro de células con diferentes alteraciones genéticas y estados de diferenciación. Estas poblaciones pueden diferir en sensibilidad a la quimioterapia, radioterapia y otros tratamientos, lo que dificulta el manejo clínico (Croce, 2008).

### **Factores de riesgo del cáncer de mama**

El cáncer de mama probablemente es causado por una combinación de factores hormonales (fisiológicos y terapéuticos), factores genéticos, otros factores fisiológicos no hormonales (por ejemplo, la edad), factores ambientales y estilo de vida, (OMS, 2019), a continuación se mencionan algunos de ellos:

### **1° Factores genéticos**

Aproximadamente del 5% al 10% de las neoplasias de mama son atribuibles a factores genéticos. Los genes de predisposición al cáncer de mama más frecuentes son BRCA1, BRCA2, PTEN (síndrome de Cowden) y TP53 (síndrome de Li-Fraumeni); actualmente se siguen explorando otros genes de predisposición, así como sus interacciones con el medio ambiente. La progenie de un progenitor que porta una mutación tiene una probabilidad del 50% de heredarla. Las personas portadoras de mutaciones en los genes BRCA1 o BRCA2 tienen un riesgo calculado de contraer cáncer de mama a los 70 años de edad de alrededor del 55% al 65% en el primer caso y del 45% al 47% en el segundo caso.

### **2° Antecedentes personales y familiares de cáncer de mama**

Las mujeres con antecedentes personales de cáncer de mama (carcinoma ductal in situ o cáncer de mama invasor) tienen un mayor riesgo de desarrollar un segundo cáncer, ya sea en la misma mama o en la otra (los cálculos indican un aumento de más del 4% a lo largo de 7,5 años).

### **3° Exposición a radiación ionizante**

La exposición a radiación ionizante en tórax a una edad temprana (el riesgo más elevado se presenta cuando la exposición ocurre entre los 10 y 14 años de edad) aumenta el riesgo, pero este disminuye de forma extraordinaria si la radiación se administra después de los 40 años. Las mamografías y radiografías del tórax no parecen aumentar el riesgo de cáncer de mama.

### **4° Factores hormonales y reproductivos**

Las hormonas endógenas, en particular la exposición a estrógenos, desempeñan una función en el crecimiento y la proliferación de las células mamarias. Los niveles elevados o prolongados de estrógenos endógenos están relacionados con un riesgo mayor de padecer cáncer de mama en las mujeres posmenopáusicas. Los factores conocidos de riesgo de cáncer de mama están asociados a factores reproductivos que prolongan la exposición natural a las hormonas producidas por los ovarios, como el inicio de la menstruación a una edad temprana, el comienzo tardío de la menopausia, edad tardía del primer embarazo (más de 30 años de edad) y nuliparidad (Momenimovahed & Salehiniya, 2019).

### **5° Hormonas terapéuticas o exógenas de estrógenos**

El uso prolongado del tratamiento hormonal sustitutivo después de la menopausia se ha asociado a un mayor riesgo de padecer cáncer de mama. En un amplio ensayo aleatorizado, las mujeres que tomaron una combinación de estrógenos y progesterona

por más de 5 años después de la menopausia presentaron un mayor riesgo de cáncer de mama.

## **6° Obesidad**

Se piensa que la asociación entre la obesidad y el riesgo de cáncer de mama se relaciona, al menos en parte, con la función de los adipocitos, que contribuyen a elevar la concentración de las hormonas circulantes y otros factores. La adiposidad puede afectar a las hormonas circulantes, ya que los precursores de estrógenos se transforman en estrógenos en los adipocitos.

## **Factores protectores**

### **1° Lactancia materna**

Muchos estudios epidemiológicos han analizado la relación entre la lactancia materna y el riesgo de padecer cáncer de mama; en términos generales, amamantar parece reducirlo. Un estudio reveló que por cada 12 meses que una mujer amamanta a su bebé, el riesgo relativo de cáncer de mama disminuye 4,3%, y otro 7% por cada bebé amamantado. Los expertos indican que la lactancia materna puede reducir la incidencia del cáncer de mama hasta en un 11%.

### **2° Actividad física**

El ejercicio regular parece tener un efecto protector contra el cáncer de mama. Los estudios revelan que es posible alcanzar una reducción promedio del riesgo del 25% al 40% entre las mujeres que se mantienen físicamente activas por comparación con las menos activas (OMS, 2019).

## **Clasificación histológica del cáncer de mama**

Más del 95% de las neoplasias malignas mamarias son adenocarcinomas, divididos en carcinomas *in situ* y carcinomas invasivos. El término carcinoma *in situ*, se refiere a una proliferación neoplásica limitada a los conductos y los lobulillos por la membrana basal. El carcinoma invasivo (infiltrante) ha penetrado en el estroma a través de la membrana basal. En este caso las células ya pueden invadir la vascularización y, por tanto, alcanzar los ganglios linfáticos regionales y sitios distantes (Kumar *et al.*, 2010).

El carcinoma *in situ* representa entre el 15 al 30% de los casos de cáncer de mama. Tiene dos variantes, el carcinoma ductal *in situ* (CDIS) que corresponde al 80%, se sospechan inicialmente por la existencia de un hallazgo mastográfico anormal (microcalcificaciones, masa o un área densa asimétrica) o por la existencia de un tumor palpable o secreción por el pezón; el carcinoma lobulillar *in situ* (CLIS) que representa el 20%, lesión poco frecuente, en general no se relaciona con masa palpable o cambios mastográficos específicos, se considera como un marcador de

riesgo y no un cáncer que evolucione hacia la forma invasora de manera directa (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019).

El carcinoma invasor representa del 70-85% del total de casos de cáncer de mama, las variantes más frecuentes son: el carcinoma ductal, abarca entre 70% y 80% de todos los casos y el carcinoma lobulillar, con una presentación del 10% de los casos, respectivamente (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019).

### **Clasificación del grado histológico Scarff-Bloom- Richardson (SBR)**

El grado histológico de malignidad constituye un reflejo de la diferenciación celular y es ampliamente utilizado entre los factores pronósticos clásicos para el cáncer de mama. Numerosos investigadores han intentado establecer pronósticos en el cáncer de mama basados en parámetros puramente morfológicos. Entre estos métodos se utiliza, aún en nuestros días, el sistema de graduación histológica de malignidad propuesto por Bloom y Richardson en el año 1957 y luego modificado por Scarff, el cual sugiere que el grado histológico mejora la estimación pronóstica de las pacientes con cáncer mamario más allá de lo que se estima con el estado ganglionar. Este grado histológico, que se basa en una combinación de mediciones del grado nuclear, el índice mitótico y el grado de diferenciación dado por la formación glandular (tubular), posee valor predictivo, pero está claro que para su utilización se requieren rigurosos programas de control de calidad con el objetivo de homogenizar su reproductibilidad y disminuir las diferencias inter observadores (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019).

**Tabla 1. Sistema de estadificación SBR**

<b>CALIFICACIÓN</b>	<b>FORMACIÓN DE TÚBULOS</b>	<b>GRADO NUCLEAR</b>	<b>NÚMERO DE MITOSIS</b>
<b>1</b>	75% o más del tumor	Núcleo pequeño, uniforme, cromatina densa	≤ 12 mitosis en 10 CGA*
<b>2</b>	10-75% del tumor	Núcleo con moderada variación en tamaño y forma; puede observarse nucleolo poco aparente	13 a 24 mitosis en 10 CGA
<b>3</b>	<10% del tumor	Núcleo con marcado incremento en tamaño, forma y contornos irregulares, 2 o más nucleolos prominentes, cromatina gruesa	≥ 25 mitosis en 10 CGA

Tomado de Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019. \*CGA, campos de alto poder.

Se deberán reportar por separado los tres parámetros mencionados y el puntaje final para determinar el grado histológico, el cual será como sigue (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019):

Grado I: 3 a 5 puntos.

Grado II: 6 a 7 puntos.

Grado III: 8 a 9 puntos.

## **Receptores hormonales**

La determinación de los receptores esteroideos ha permitido clasificar los tumores mamarios, según su contenido en receptores de estrógenos y/o de progesterona, en hormono-dependientes (RE+RP+, RE+RP- y RE-RP+) y hormono-independientes (RE-RP-). Esta clasificación ha resultado de gran utilidad, puesto que permite seleccionar a las pacientes candidatas a terapia hormonal, reconocer a aquellas con mayor riesgo de recurrencia y asociar el estado de receptores de estradiol con una serie de características: los tumores RE+ suelen observarse en pacientes de mayor edad y ser de menor tamaño, histológicamente más diferenciados y con pequeño porcentaje de células en fase S (Sunderland & Mcguire, 1991; Cano *et al.*, 1995).

Existen dos tipos de RE, RE $\alpha$  y RE $\beta$  este último con cinco isoformas de las que destacan RE $\beta$ 1 y RE $\beta$ 2, que presentan una elevada homología pero diferentes propiedades de unión al ADN y al ligando, así como un patrón de expresión celular y tisular ligeramente distinto, lo que indica que probablemente estén implicados en distintos procesos biológicos (Kuiper *et al.*, 1997; Grandien, 1997). Así RE $\alpha$  es un activador transcripcional mucho más potente que RE $\beta$  y es considerado el marcador predictivo de la respuesta a una terapia antiestrogénica. La implicación del RE $\beta$  en cáncer de mama no está clara, pero podría antagonizar los efectos del RE $\alpha$  al heterodimerizar con éste (Peng *et al.*, 2003). Cabe señalar, que en ausencia de RE $\alpha$ , el RE $\beta$  media parcialmente, los efectos de los estrógenos sobre la transcripción de genes. La acción de la progesterona está mediada por RP, del que se han descrito dos isoformas, RP-A y RP-B, codificadas por un mismo gen a partir de promotores diferentes. En la mayoría de los contextos celulares, RP-B es un activador de la transcripción génica muy potente, mientras que RP-A puede actuar como un represor trans de los RP-B y de otros receptores esteroideos, como RE, o formando heterodímeros. Elevadas cantidades de progesterona, en combinación con estradiol, tiene actividad proliferativa importante en glándula mamaria adulta de roedores y humanos, mediada por RP; aun así en general, la síntesis de RP, así como la mayor prevalencia de RP-B, son de buen pronóstico, mientras que la pérdida de RP o una elevada penetrancia de RP-A indican mayor agresividad tumoral y mayor probabilidad de metástasis (Clarke *et al.*, 2004).

Sin embargo, la determinación de los receptores no es suficiente para discernir la hormono-dependencia funcional, como lo demuestra el hecho de que entre un 20 y 30% de los tumores con receptores no responden a la terapia, o desarrollan resistencia durante la realización de la misma.

### **Clasificación molecular del cáncer de mama**

El trabajo de medicina traslacional sobre los cuatro fenotipos moleculares del cáncer de mama (luminal, con sobre-expresión de HER2, fenotipo basal y el similar a mama normal) definidos inicialmente mediante genómica, ha permitido aproximarse a esta clasificación mediante metodologías más accesibles como la inmunohistoquímica (IHQ), empleando marcadores rutinarios como RE, RP y HER2. En población mexicana, la frecuencia promedio de subgrupos definidos por estos marcadores es la siguiente: receptores hormonales positivos 60%, HER2 positivos 20.4% y triples negativos 23.1%. En la Tabla 1 se muestran los subtipos moleculares de cáncer de mama y su aproximación por IHQ (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019).

La Sociedad Americana de Oncología Clínica, recomienda que a todas las pacientes con diagnóstico de cáncer de mamá, se les realice la determinación de los RE y RP para incluir el beneficio del tratamiento endocrino. Lo mismo sugiere con la determinación de HER2, en los casos del subtipo invasor al diagnóstico o en la recaída, los cuales se ven beneficiados con el tratamiento de trastuzumab (anticuerpo monoclonal contra HER2) (Kumar, V *et al.*, 2010; Shemanko, 2016). En cuanto al Ki67, no se ha conseguido establecer un punto de corte óptimo, aunque se aceptó el valor del 20% en el Consenso de St. Gallen de 2015 (Coates *et al.*, 2015). El subtipo luminal A, se considera el más diferenciado y por lo tanto de mejor pronóstico, el subtipo basal (pertenece al subtipo triple negativo) está asociado frecuentemente a metástasis y un pobre pronóstico (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019).

**Tabla 2. Clasificación molecular del cáncer de mama**

SUBTIPO	RE	RP	HER2	Ki67*	GRADO HISTOLÓGICO
Luminal A	+	>20%	-	<20%	1 o 2
Luminal B HER2 -	+	<20%	-	>20%	3
Luminal B HER2 +	+	<20%	+	>20%	3
HER2	-	-	+	Usualmente alto	3
Triple negativo	-	-	-	Usualmente alto	3

Tomado y adaptado de Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019.

\*Ki67, marcador celular de proliferación.

### Clasificación TNM

El sistema de estadificación de cáncer de mama de la Sociedad Americana en Cáncer brinda información pronóstica importante. El comportamiento del cáncer de mama se ha comprendido tanto por la etapa clínica, como por la identificación y validación de marcadores biológicos pronóstico que son determinantes para el tratamiento (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019; Giuliano *et al.*, 2017).

Esta clasificación tiene como fin, determinar la extensión anatómica de las neoplasias basadas en apreciaciones clínicas o patológicas. Toma en cuenta para estratificar el cáncer al tamaño del tumor (T), presencia de metástasis a nódulos (N) y la presencia de metástasis a distancia, a otros órganos o tejidos (M). Las pacientes con cáncer de mama se clasificarán en alguno de los ocho subtipos de estadio clínico (TNM) acuerdo a las características descritas por Cárdenas-Sánchez *et al.* (2019) y Giuliano *et al.* (2017).

Mientras que las siete primeras ediciones de la TNM se crearon como un sistema de clasificación estandarizado, la rápida evolución de la biología del cáncer cuestionó la utilidad de la TNM con un enfoque clínico individualizado. Por este motivo la 8va edición añade algunas modificaciones con respecto a las ediciones anteriores, y además, se incorpora la evaluación de los RE, RP, HER2 y Ki67. Esto se traduce en la combinación de la clasificación histológica con la molecular que permite clasificar a estas pacientes de una forma más individualizada en función del riesgo definiendo un

manejo personalizado que se basa en factores pronósticos del riesgo de recidiva y factores predictivos de la respuesta al tratamiento (Alcaide Lucena *et al.*, 2021).

## **Tratamiento del cáncer de mama**

El tratamiento integral del cáncer de mama es multidisciplinario, los manejos locorreregionales son cirugía y radioterapia en cualquiera de sus tres modalidades (neoadyuvante, adyuvante y paliativa) y el tratamiento sistémico incluye la quimioterapia, la terapia endocrina y la terapia dirigida a blancos moleculares.

### **Cirugía**

El tratamiento quirúrgico del tumor primario en el cáncer de mama ha pasado por múltiples modificaciones. En la actualidad, las opciones de tratamiento incluyen la cirugía conservadora, la mastectomía total con o sin reconstrucción inmediata y la cirugía oncoplástica de la mama.

Recomendaciones para mastectomía total (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019):

- ❖ Enfermedad multicéntrica
- ❖ Relación mama- tumor desfavorable
- ❖ Imposibilidad de conseguir márgenes negativos (sin tumor en tinta)
- ❖ Deseo del paciente

Cirugía conservadora. La cirugía conservadora de mama se define como escisión completa del tumor primario con margen quirúrgico negativo, debe complementarse con radioterapia adyuvante, y es el tratamiento estándar en etapas tempranas (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019).

En diversos estudios la cirugía conservadora y radioterapia adyuvante, han demostrado resultados similares en cuanto a recurrencia loco-regional y supervivencia global en comparación con la cirugía radical (Houssami *et al.*, 2010).

Algunas de las contraindicaciones son la presencia de carcinoma inflamatorio, imposibilidad de recibir radioterapia adyuvante, imposibilidad de obtener márgenes negativos (multicentralidad) (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019).

Ganglio centinela. Otro aspecto fundamental en el tratamiento quirúrgico del cáncer de mama es el manejo de los ganglios axilares, esto tiene fines pronósticos para la estadificación y terapéuticos con el fin de disminuir la recurrencia local. Por muchos años, la disección de la axila ha sido el estándar de tratamiento, sin embargo, el beneficio de este procedimiento en pacientes con ganglios clínicamente negativos es muy bajo y sus complicaciones son relativamente frecuentes. En la actualidad la

dissección del ganglio centinela es el abordaje quirúrgico de elección en los casos en que la axila es clínicamente negativa (Veronesi *et al.*, 2003).

El carcinoma ductal in situ puede tratarse con cirugía conservadora mientras se obtengan márgenes adecuados (>2 mm), la radioterapia adyuvante disminuye la recaída local, la mastectomía total es una opción de tratamiento en pacientes seleccionados que tengan un riesgo mayor para recaída local (alto grado, <40 años, multicéntrico, >2 cm); es controvertida la utilidad del ganglio centinela (GC) sin embargo este grupo de pacientes es el que tiene la mayor posibilidad de enfermedad con invasión por lo que se recomienda su uso (Veronesi *et al.*, 2003; Luini *et al.*, 2009).

Dissección radical de axila. Es indicada a pacientes con manejo quirúrgico primario (cirugía conservadora o mastectomía total), en quienes se ha corroborado la afección ganglionar mediante una biopsia o clínicamente, se recomienda en cualquiera de los casos la evaluación de un mínimo de 10 ganglios para una adecuada estadificación (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019).

### **Tratamiento sistémico adyuvante (hormonoterapia ± quimioterapia ± trastuzumab)**

Con el objeto de determinar la terapia adyuvante óptima, el oncólogo clínico deberá contar con una información completa de las características biológicas del tumor. En particular, la expresión o no de los receptores hormonales y el HER2 neu (potenciales blancos terapéuticos) tienen importancia trascendental para brindar el mejor tratamiento individualizado. La terapia sistémica deberá iniciarse tan pronto como sea posible, de preferencia antes de 6 semanas de realizado el tratamiento quirúrgico (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019).

**Pacientes con ganglios positivos.** A causa del alto riesgo de recaída en este grupo, todas las pacientes con ganglios positivos deberán recibir tratamiento sistémico adyuvante (quimioterapia ± hormonoterapia ± trastuzumab) sin importar el número de ganglios afectados.

**Pacientes con ganglios negativos.** Se recomienda la administración de tratamiento adyuvante sistémico (quimioterapia ± hormonoterapia ± trastuzumab) cuando exista alguna de las siguientes condiciones (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019):

- ❖ Tumor >1 cm (más de 3 cm para histología favorables como cáncer tubular y mucinoso) con receptores hormonales positivos y HER negativo (hormonoterapia ± quimioterapia).
- ❖ Tumor triple negativo > 5mm (quimioterapia).

- ❖ Tumor >5mm con sobreexpresión HER2 (quimioterapia + trastuzumab ± hormonoterapia).
- ❖ Firma genómica de alto riesgo de recurrencia en los casos en que esté disponible (quimioterapia + hormonoterapia).

Los esquemas de quimioterapia de dosis densas con adriamicina + ciclofosfamida bisemanal seguido de paclitaxel semanal más filgrastim logran una reducción de 26% en el riesgo de recurrencia y de 31% en la posibilidad de muerte. Con respecto a la secuencia de aplicación entre antraciclinas y taxanos, un meta-análisis publicado apoya el uso de taxanos seguido de antraciclinas como una opción razonable en la práctica clínica diaria. Los resultados obtenidos en respuestas patológicas en algunos ensayos clínicos fase III también apoyan dicha sugerencia. La inclusión en adyuvancia de otros medicamentos como la gemcitabina, las sales platinadas o la capecitabina a los esquemas con antraciclinas y taxanos no se recomienda, ya que los estudios en neoadyuvancia no han demostrado beneficio clínico (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019).

**Terapia Endocrina.** Entre 50 y 70% de los pacientes con cáncer de mama, el tumor será hormonosensible por lo que se podrán beneficiar de una de las siguientes modalidades de manejo. La decisión dependerá de las condiciones de la paciente, comorbilidades, biología tumoral y perfil de seguridad de cada tratamiento (Waks & Winer, 2019).

En el terreno adyuvante, la administración de tamoxifeno durante cinco años ha demostrado una disminución en el riesgo de recurrencia de 40% y en riesgo de muerte de 35%, así como reducción en el desarrollo de otro cáncer de mama. Los beneficios de tamoxifeno son similares en mujeres premenopáusicas que en posmenopáusicas. Es importante considerar que el uso de tamoxifeno está relacionado con eventos adversos mayores tales como cáncer endometrial en 1% y enfermedad tromboembólica en 2% (Arce *et al.*, 2011).

Los inhibidores de aromatasa, representan otra opción terapéutica en el tratamiento adyuvante exclusivo de mujeres posmenopáusicas. La decisión del tipo de inhibidor se relaciona con el perfil de toxicidad y características de riesgo en cada paciente. La duración óptima recomendada es de cinco años. El beneficio absoluto es de 3% de disminución de recurrencia (Riemsma *et al.*, 2010).

**Terapia Biológica.** Aproximadamente 15 a 25% de las neoplasias de mama tendrá sobreexpresión del gen HER2. El trastuzumab es un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido en contra de la proteína HER2. Diversos estudios han evaluado el beneficio de trastuzumab concomitante o secuencial con quimioterapia de forma adyuvante, los resultados combinados demuestran disminución relativa del riesgo de recurrencia o muerte del 38% (Arce *et al.*, 2011). En pacientes con sobreexpresión de

HER2 y considerados de alto riesgo de acuerdo al tamaño tumoral y estado ganglionar se justifica el tratamiento con pertuzumab (Waks & Winer, 2019).

## **Factores pronósticos y predictivos en cáncer de mama**

Históricamente se han intentado establecer grupos de riesgo con base en factores pronósticos para determinar si las pacientes son candidatas a terapia adyuvante, de acuerdo a una serie de parámetros clínico-patológicos (estado de los ganglios linfáticos, tipo y grado histológico, tamaño del tumor, estado de los receptores hormonales y del oncogén HER2, entre otros). Existe una nueva clasificación del cáncer de mama, la cual se fundamenta en el análisis de la expresión de múltiples genes en cada tumor. En los últimos años se han relacionado los fenotipos tumorales con los perfiles de expresión genómica, tras el análisis por microarreglo de ADN de las variaciones en los patrones de expresión genómica. Algunas de las metodologías para la evaluación del perfil genómico son: el uso de microarreglo de ADN, que requiere de tejido congelado o fresco y el uso de la RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa) para cuantificar la expresión de los genes seleccionados prospectivamente sobre el tumor embebido en parafina. Uno de los ejemplos más exitosos y ahora más conocido es el denominado Oncotype DX (Vega *et al.*, 2014). Este método revela la biología individual del tumor basándose en la medida de expresión de 21 genes por RT-PCR, está siendo empleado en pacientes con cáncer de mama en estadio inicial RH+, HER2-, N0, es comercializado en diversas partes del mundo debido a su fácil utilización al basarse en biopsias diagnósticas fijadas en formol e incluidas en parafina; ha demostrado alta reproducibilidad y consistencia en sus resultados, además de un gran beneficio al lograr seleccionar pacientes que no podrían necesitar un tratamiento con quimioterapia (Sparano *et al.*, 2019).

## **PRL Y PRLR**

La prolactina es una hormona polipeptídica, sintetizada y secretada principalmente por las células lactótrofas de la pituitaria anterior. Estudios han demostrado la síntesis y secreción de prolactina extrahipofisaria (ePRL) en varios tejidos y órganos periféricos, regulada por mecanismos diferentes de los que regulan la prolactina pituitaria (pPRL). Las diferencias entre pPRL y ePRL, son que el ARNm de la ePRL contiene 150 pares de bases adicionales, debido a la transcripción extrapituitaria del exón no codificante 1a bajo el control de un promotor distal. Las estructuras proteicas de pPRL y ePRL son idénticas y ambas formas se unen al PRLR. Los principales sitios de síntesis y secreción de ePRL son la decidua, la glándula mamaria, el ovario, la próstata, los testículos, los linfocitos, las células endoteliales, el cerebro, piel, folículos pilosos, tejido adiposo y cóclea (Bernard *et al.*, 2015).

Las acciones de la prolactina están mediadas por su receptor transmembrana, PRLR (Bernard *et al.*, 2019). Constituye un sistema receptor complejo, vinculado a más de

300 funciones biológicas que van desde la reproducción y la diferenciación celular hasta la respuesta inmunitaria (Bugge *et al.*, 2016).

La función de la prolactina durante la lactancia ha sido establecida por décadas, sin embargo, siguen surgiendo nuevos conocimientos. Tiene función crucial en la reproducción al contribuir al desarrollo de la glándula mamaria durante el embarazo y periodo post-parto temprano, en la formación del cuerpo lúteo y provee condiciones favorables para la implantación al favorecer la secreción de progesterona y expresión del receptor de progesterona por las células epiteliales uterinas (Gorvin, 2015).

Pacientes con hiperprolactinemia presentan una variabilidad de anomalías en la reproducción. El 40% de las mujeres con hiperprolactinemia tienen amenorrea, otras pacientes manifiestan galactorrea, infertilidad e hipogonadismo (Devi & Halperin, 2014). La prolactina es menos abundante en el hombre, sin embargo tiene funciones específicas, los pacientes con hiperprolactinemia manifiestan disfunción eréctil (16%) y oligospermia (10%) (Kokay *et al.*, 2011).

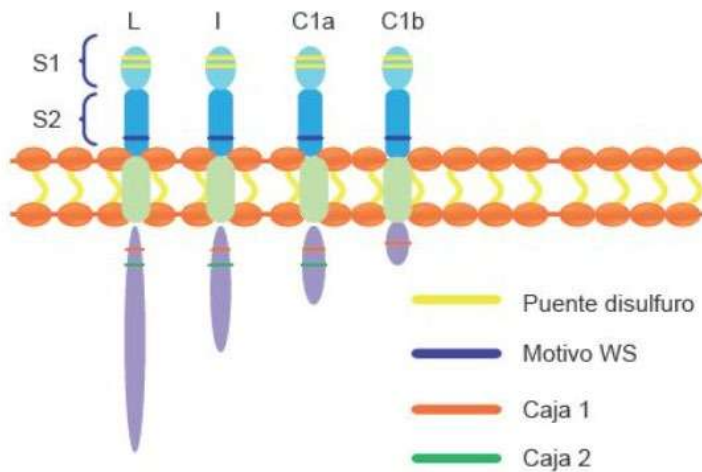
Se requiere de la isoforma corta y larga del PRLR para la expresión de las proteínas de la leche y lactación.

El PRLR pertenece a la familia de receptores de citocinas tipo I. El gen que codifica el receptor de prolactina se localiza en el cromosoma 5 y contiene 11 exones, con una longitud aproximada de 100 Kb, tiene el potencial de producir múltiples isoformas del receptor, conformadas por tres dominios: extracelular, transmembrana e intracelular (Brooks, 2012; Abramicheva & Smirnova, 2019).

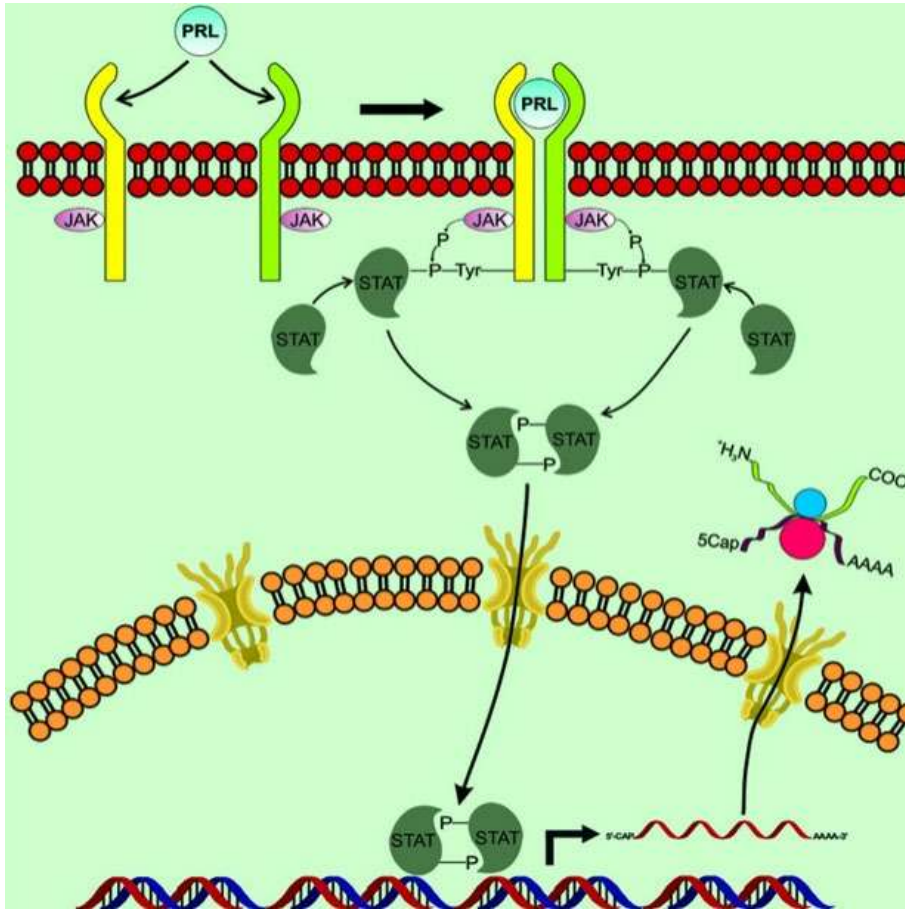
El dominio extracelular está compuesto por 210 aminoácidos, se divide a su vez en dos dominios de fibronectina tipo II, D1 (membrana distal) y D2 (membrana proximal), de los cuales este último contiene un motivo WS, que actúa como un interruptor molecular para el PRLR durante la activación ligando a ligando; un dominio transmembrana conformado por 24 aminoácidos y un dominio intracelular desordenado. El dominio intracelular incluye al dominio Caja-1, motivo rico en prolina que interactúa con las cinasas de la familia JAK2 y SRC, tres dominios de interacción lipídica y Caja-2, la función de Caja-2 sigue sin estar clara, aunque algunos estudios han sugerido que participa en la asociación con JAK2 (Figura 1). Estudios han revelado que la homodimerización de los receptores de citocinas tipo I puede ocurrir en ausencia de hormona y es insuficiente para la activación del receptor. La unión de una hormona al dominio extracelular conduce a la formación de un complejo ternario asimétrico que consiste en una hormona y dos cadenas receptoras (Qazi *et al.*, 2006), los heterodímeros de isoformas largas y cortas del PRLR son funcionalmente inactivos (Bernard *et al.*, 2015).

En humanos el PRLR se expresa constitutivamente en la membrana celular (Bernard *et al.*, 2019), como todos los receptores de la familia de citocinas tipo I, el receptor de

prolactina no tiene actividad enzimática, sin embargo la unión ligando-receptor, favorece la dimerización del PRLR, la aproximación y autofosforilación de Jak2, que a su vez contribuye a la fosforilación del PRLR, generando un receptor con múltiples residuos de fosfotirosina. Las fosfotirosinas y sus secuencias aminoacídicas adyacentes son dominios de unión de proteínas con dominios SH2 presentes en STAT. La proximidad de Jak2 a las proteínas STAT, permite a esta tirosina cinasa fosforilarlas. Una vez fosforiladas en tirosina, se disocian del receptor, y homo- o heterodimerizan y se traslocan al núcleo donde interaccionan con secuencias promotoras específicas facilitando la transcripción génica (Figura 2). Aunque la PRL parece enlazarse sólo al PRLR, el PRLR puede unir tres ligandos diferentes (PRL, lactógeno placentario y la hormona del crecimiento), lo que podría dificultar determinar los efectos específicos de la prolactina *in vivo* (Shemanko, 2016; Brooks, 2012).



**Figura 1. Representación esquemática de las tres isoformas del receptor de prolactina.** El dominio extracelular idéntico está dividido en dos sub-dominios. La porción intracitoplasmática difiere en tamaño y composición (Blanco-Favela *et al.*, 2012).



**Figura 2. Activación de la vía de señalización Jak/Stat por unión de PRL a su receptor membranal.** La unión hormona-receptor provoca dimerización de éste y su posterior fosforilación en tirosinas por una proteína Jak asociada. Las tirosinas fosforiladas del receptor funcionan de anclaje para que se unan las proteínas STAT, que son a su vez fosforiladas por las Jak y después liberadas para dimerizarse y translocarse al núcleo, donde estimulan la transcripción de sus genes blanco (Locia Espinoza *et al.*, 2013).

Se han identificado en roedores y humanos múltiples isoformas del PRLR que resultan del empalme alternativo de la transcripción primaria del ARNm. Estas isoformas tienen dominios extracelulares idénticos, pero difieren en el tamaño y la secuencia de la porción intracelular, que puede ser corta, intermedia o larga. La isoforma principal del PRLR que se encuentra en los seres humanos es una proteína larga compuesta de 598 aminoácidos, en su dominio intracelular existen múltiples motivos cortos, los cuales fundamentan la idea de que puede interactuar con varias cinasas o vías de señalización simultáneamente. La activación de las vías de señalización río abajo puede producir diferentes respuestas celulares, lo que explica en parte la versatilidad de las acciones ejercidas por la prolactina en algunos tejidos (Bernard *et al.*, 2019; Abramicheva & Smirnova, 2019). En la isoforma corta del PRLR

no hay fosforilación de tirosinas, lo cual impide que interactúe directamente con proteínas con dominios SH2, como las proteínas STAT (Bernard *et al.*, 2015).

La primera caracterización estructural integral del dominio intracelular del PRLR muestra que está intrínsecamente desordenado a lo largo de toda su longitud e interactúa específicamente con los lípidos distintivos de la membrana plasmática interna a través de clusters (Haxholm *et al.*, 2015). La estructura completa del receptor se generó hace unos años combinando hallazgos experimentales y computacionales con datos publicados anteriormente, incluyendo espectroscopia de resonancia magnética nuclear, dispersión de rayos X de ángulo pequeño, espectrometría de masas y modelado molecular (Bugge *et al.*, 2016). Los resultados proporcionaron la primera vista completa de un receptor de citoquina de clase 1, que ejemplifica la arquitectura de más de 40 receptores diferentes.

El dominio intracelular puede interactuar con numerosas cinasas y vías de señalización debido a su flexibilidad estructural. Esta visión innovadora del receptor revela que el dominio extracelular es simplemente la punta de un enorme iceberg molecular (Bernard *et al.*, 2019).

Además de las diferentes isoformas unidas a la membrana, se ha identificado un PRLR soluble (llamado proteína de unión a PRL), que contiene sólo el dominio extracelular del receptor de membrana. Dependiendo de la especie, la proteína de unión a PRL se puede generar a partir de empalme alternativo del ARNm del PRLR o escisión del receptor de membrana (Bernard *et al.*, 2015).

## **Receptor de prolactina (PRLR) y su asociación a cáncer de mama**

Los informes sobre la expresión del PRLR en el cáncer de mama humano son contradictorios. Esto se debe en parte al uso de diferentes metodologías, la sensibilidad y especificidad de las pruebas. En un inicio la unión de PRL radiomarcada al tejido se utilizó para detectar la presencia del PRLR y cuantificar su nivel de expresión relativa, estos estudios detectaron la expresión del PRLR en un 20-60% de los tumores de mama en humanos. Más tarde, la expresión del PRLR se re-examinó cuantificando el ARNm utilizando PCR en tejido sano y tumores de mama. En paralelo, las mismas muestras fueron analizadas mediante inmunohistoquímica. Los autores no encontraron una correlación entre los niveles de expresión relativa del PRLR evaluados por las dos técnicas (Galsgaard *et al.*, 2009).

Estudios *in vitro* e *in vivo*, destacaron la participación de la vía de señalización prolactina/Jak2/Stat5, en el desarrollo de la glándula mamaria y la diferenciación terminal de las células epiteliales de la mama (Iavnilovitch *et al.*, 2002; Hennighausen & Robinson, 2008; Walker *et al.*, 2016). Por otro lado, el rol de la PRL en el desarrollo y progresión del cáncer de mama, no está del todo claro. Estudios previos sugieren que la PRL podría contribuir al desarrollo del cáncer de mama al funcionar como un

factor de crecimiento local, a través de un bucle autócrino PRL/ PRLR. Además, los estudios con ratones transgénicos diseñados para sobre-expresar PRL en células epiteliales mamarias dieron como resultado el desarrollo de tumores mamarios. Al mismo tiempo, se descubrió que PRL y PRLR desempeñan un papel permisivo en los tumores mamarios inducidos por oncogenes. Además, PRL y PRLR estuvieron recientemente implicados en la diseminación metastásica del cáncer de mama (Blanco-Favela *et al.*, 2012).

Si bien los estudios anteriores destacan el rol de la PRL en el desarrollo de la oncogénesis, estudios recientes, proponen un papel diferente como supresor potencial de la oncogénesis mamaria.

Recientemente se descubrió que la expresión de PRL y PRLR en el cáncer de mama, se correlaciona con un pronóstico favorable del paciente (López-Ozuna *et al.*, 2016). En apoyo a estos hallazgos, se encontró que la expresión de PRL y PRLR estaba regulada negativamente en pacientes con cáncer de mama y líneas celulares de cáncer de mama (Volker *et al.*, 2018). Faupel-Badger y colaboradores evaluaron la relación entre la expresión del PRLR y las características histológicas del tumor, encontrando que los tumores de gran tamaño y mal diferenciados se asociaron a una tinción negativa para el PRLR (Faupel-badger *et al.*, 2013). Además, se descubrió que la expresión/activación de PRL, molécula efectora STAT5a, se asocia con mayores niveles de diferenciación histológica en los tejidos de cáncer de mama y distingue a pacientes con pronóstico favorable y respuesta a la terapia endocrina. La pérdida de expresión de STAT5a también se asoció con la progresión tumoral y resultados clínicos desfavorables. La proteína ácida del suero (WAP) y la  $\alpha$ -caseína, que se sintetizan ante el estímulo de la PRL, también mostraron inhibición de la oncogénesis y la invasión de células de cáncer de mama. Juntos, estos hallazgos proporcionan evidencia convincente sobre el papel de la vía de señalización de la PRL en el mantenimiento de la diferenciación de tejidos y como un supresor de la oncogénesis mamaria. Este papel supresor inesperado de PRL en el cáncer de mama todavía está emergiendo y necesita ser más explorado (López-Ozuna *et al.*, 2016).

El proceso de EMT (transición epitelial-mesenquimal) es un paso esencial en la propagación de las células tumorales y progresión tumoral, se atribuye su participación principalmente en diversas funciones, incluyendo la iniciación del tumor, migración celular, afectación de ganglios linfáticos, metástasis, así como resistencia a la terapia. Varios estudios asignan al PRLR una función supresora de la transición epitelial-mesenquimal.

En un estudio se evaluó la expresión de PRLR/TGF $\beta$  y su correlación con parámetros clinicopatológicos, mediante la elaboración de TMA (microarreglo tisulares) de 102 casos de cáncer de mama y el análisis de una base de datos (GOBOCAN), obteniendo como resultado que el nivel de coexpresión entre los receptores de TGF $\beta$  y PRLR disminuyó con la progresión tumoral, las etapas más avanzadas de la

enfermedad y los tumores ganglio linfáticos positivos; una alta expresión de la firma genética PRLR/TGF $\beta$ -RI/TGF $\beta$ -RII fue un indicador de tumores de bajo grado y un marcador de mejores resultados para el paciente (Hachim *et al.*, 2019). Shams y col (2021), encontraron que al interferir con la expresión del receptor de prolactina en células de cáncer de mama representativas de los subtipos luminal y epitelial (receptor hormonal positivo) y enriquecido con HER2, existía una pérdida de su estado de diferenciación y un aumento en su capacidad oncogénica específica. La pérdida de expresión de PRLR en las células de cáncer de mama HR+ causó su desdiferenciación generando un fenotipo mesenquimal-basal, con alta capacidad oncogénica, metastásica y resistencia a la terapia hormonal. Mientras que la pérdida de la expresión de PRLR en las células de cáncer de mama HER2 dio lugar a la pérdida de su diferenciación luminal, mostrando una elevada propagación oncogénica, metástasis multiorgánica y resistencia a la terapia anti-HER2.

En conjunto los estudios mencionados anteriormente definen al PRLR como un impulsor de la diferenciación luminal y epitelial, limitando la plasticidad celular, estabilidad y oncogénesis. Por lo tanto, una mejor comprensión de los mecanismos moleculares que regulan la EMT, y posteriormente el cambio/conversión crítico de las células de cáncer de mama de epitelial a la adquisición de propiedades mesenquimales y similares a las células madre, que conducen a la heterogeneidad tumoral y al fenotipo agresivo puede ofrecer un nuevo objetivo muy necesario para el pronóstico y la terapia en el cáncer de mama (Moamer *et al.*, 2019).

La diferenciación celular mamaria causada por la señalización PRL-PRLR-JAK2-STAT5 es un mecanismo por el cual un embarazo en edad temprana reduce el riesgo de cáncer de mama. Sin embargo, la activación de STAT5 en lesiones preneoplásicas preexistentes en ratones provoca una progresión acelerada del cáncer a través de la supresión de la apoptosis. Este hallazgo proporciona una explicación para el aumento del riesgo de cáncer de mama asociado con un embarazo en edad avanzada cuando las lesiones tempranas pueden haberse formado ya. Se han notificado formas activas de JAK2 y STAT5 en lesiones mamarias premalignas, cáncer de mama y otras neoplasias (Johnston *et al.*, 2018).

La vía PRL-PRLR-STAT5 debe ser específica, el microambiente y contexto celular, pueden contribuir en la elección y funcionalidad de la vía de señalización, la rigidez de las matrices de colágeno se ha identificado como un factor clave en las opciones de dicha vía. El uso de matrices de colágeno *in vitro*, demostró que una matriz de colágeno sin alteración, promovía la activación de PRL-STAT5 y la diferenciación celular; mientras que una rigidez en la matriz de colágeno, activaba la señalización PRL-SRC-FAK (cinasa de adhesión focal)-MAPK (proteína cinasa activada por mitógenos), favoreciendo la progresión del cáncer de mama, a través de la proliferación, invasión y resistencia a medicamentos (tamoxifeno), en lugar de fomentar la diferenciación (Shemanko, 2016). Estas observaciones explican el porqué,

en algunos casos PRL o el PRLR se asocian con un pronóstico bueno o alternativamente pobre.

En otros estudios, la activación de PRL-STAT5 se asoció con características invasivas reducidas *in vitro* en células T47D. (Shemanko, 2016).

Descifrar estos factores y vías de señalización en un futuro próximo ayudará a definir tanto los aspectos protectores como las dianas terapéuticas.

### III. JUSTIFICACIÓN

El cáncer de mama es el tumor maligno más frecuente en las mujeres a nivel mundial, representa 16% de los casos con cáncer y 458 mil mujeres fallecen cada año por este motivo. El 69% de muertes por cáncer de mama se presenta en países en vías de desarrollo donde la mayoría de los casos se diagnostican en fases avanzadas, dificultando un tratamiento exitoso. El grupo de edad más afectado se encuentra entre los 40 y los 59 años de edad (INEGI, 2019). En México las tasas de mortalidad observadas por tumor maligno de mama han tenido una tendencia al alza en el periodo de 2011 a 2016; siendo el año 2016 donde se ubicó la tasa más alta, con 16 defunciones por cada 100,000 mujeres mayores de 20 años (INEGI, 2019).

Michoacán ocupa el lugar 22 a nivel nacional en diagnóstico de pacientes con cáncer de mama. De todos los casos que se atienden en el Centro Estatal de Oncología, el 17 al 20% se detectan en estadio clínico I, el 40% o más en estadios avanzados III o IV, generando un alto impacto en la economía familiar del paciente y secuelas psicosociales (SSA, 2019).

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea, con un amplio espectro de factores clínicos, patológicos y moleculares, que están íntimamente relacionados, no solo con el pronóstico de la enfermedad, sino que también intervienen en la toma de decisiones terapéuticas; entre los más importantes están: la edad, el tamaño tumoral, el estado ganglionar y la metástasis (estadio clínico), el tipo y grado histológico, el estado de los receptores hormonales (estrógenos y progesterona) y la sobre-expresión de oncoproteínas y factores de proliferación celular. Con base en lo anterior es factible categorizar a las pacientes en diferentes grupos de riesgo, individualizar esquemas de tratamiento e indicar terapias blanco, todo ello con el propósito de obtener mejores tasas de supervivencia.

Existen evidencias, en algunos subtipos del cáncer de mama, que la expresión alterada de PRLR, participa activamente como potencial supresor en la oncogénesis mamaria, al reducir las propiedades invasivas de las células en la glándula mamaria, correlacionando su sobre-expresión con un pronóstico favorable. Sin embargo, hay pocos estudios en relación a esta proteína y por lo tanto, aún no se considera dentro de los marcadores que debe formar parte de la evaluación en pacientes con cáncer de mama.

El objetivo de esta investigación es analizar la expresión de PRLR en muestras histológicas de pacientes con cáncer de mama, asociar su expresión con subtipos que presenten un elevado nivel de diferenciación histológica. Este proyecto de investigación tendrá trascendencia, ya que si se comprueba su expresión, esta proteína nos permitirá distinguir a pacientes con buen pronóstico, logrando asistir en la toma de decisiones en un grupo específico de pacientes, con la finalidad de desescalar el tratamiento y evitar toxicidad innecesaria.

#### **IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿La sobreexpresión del receptor de prolactina estará asociado al subtipo histológico más diferenciado y de mejor pronóstico en pacientes con carcinoma ductal invasor de mama?

#### **V. HIPÓTESIS**

La sobreexpresión del receptor de prolactina en muestras histológicas de pacientes con cáncer de mama se asocia al subtipo histológico más diferenciado y de buen pronóstico.

#### **VI. OBJETIVO GENERAL**

Asociar la expresión de PRLR con el tipo histológico, molecular y el estado clínico de pacientes con cáncer de mama.

#### **VII. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Clasificar los casos de cáncer de mama por tipo histológico, molecular y TNM.
2. Analizar la expresión de PRLR en muestras histológicas de pacientes con cáncer de mama.
3. Correlacionar la expresión de PRLR con tipo histológico, molecular, TNM y estado clínico de las pacientes.

## Diseño experimental

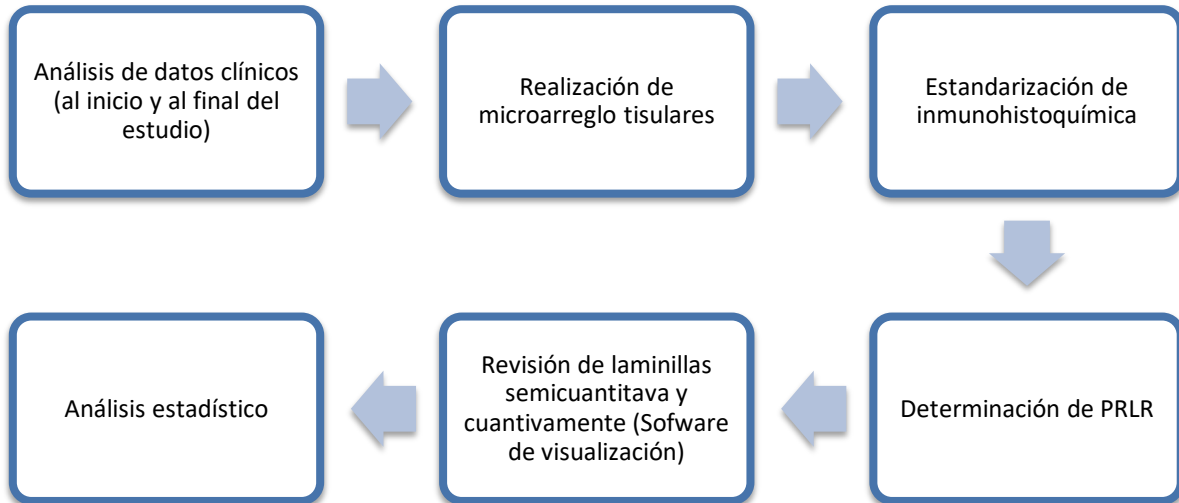


Figura 3. Algoritmo del diseño experimental.

## **VIII. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **8.1 Diseño del estudio**

Ambispectivo, descriptivo, transversal y observacional.

### **8.2 Universo de trabajo**

Pacientes del género femenino con diagnóstico de cáncer de mama que ingresaron a los Servicios de Medicina Interna y Ginecología del Hospital Regional No. 1 IMSS, Charo y del Hospital General “Doctor Miguel Silva”, durante el período de Enero de 2015 a Diciembre de 2017, con expediente clínico y que en el Servicio de Patología se dispusiera con bloque de la biopsia del tumor; la selección de pacientes se realizó mediante la técnica de muestreo no probabilística por conveniencia.

### **8.3 Criterios de inclusión**

Muestras histológicas de pacientes con diagnóstico de cáncer de mama.

Muestras con expediente clínico.

Muestras con resultados de inmunohistoquímica para receptores de estrógenos, progesterona y HER2.

### **8.4 Criterios de exclusión**

Casos con expediente clínico incompleto.

Casos sin bloque de parafina.

### **8.5 Criterios de eliminación**

Muestras sin células malignas.

Muestras con abundante necrosis.

### **8.6 Procedimiento**

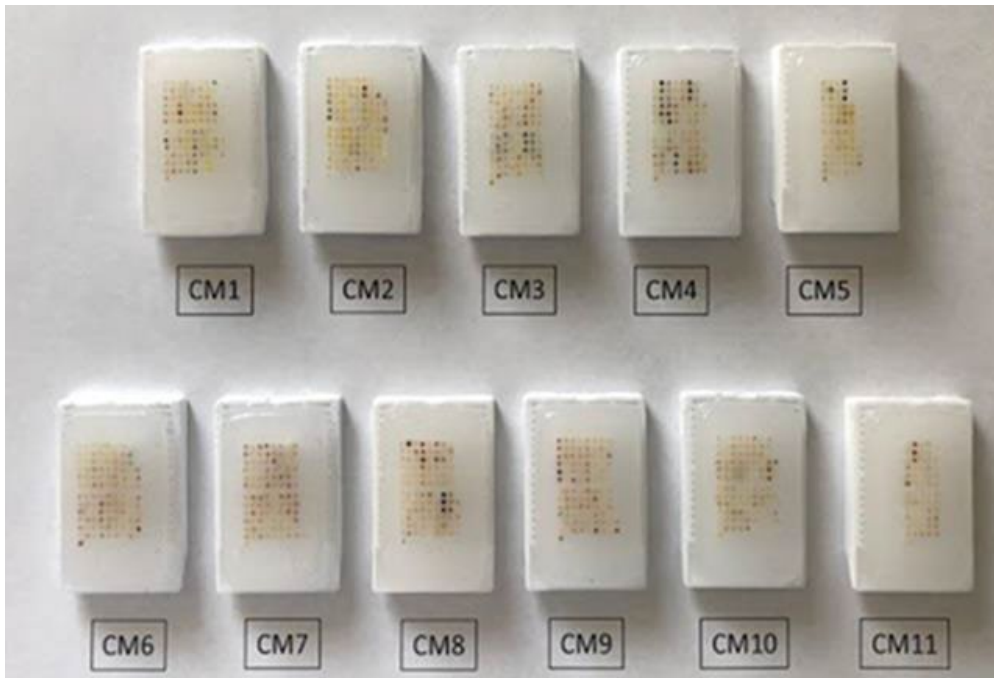
En el servicio de patología del Hospital General “Doctor Miguel Silva” y del Hospital Regional IMSS, Charo, se solicitó la relación de pacientes con diagnóstico histopatológico de cáncer de mama y sus respectivos resultados de inmunohistoquímica para receptores de progesterona, estrógenos y HER2. Posteriormente en el servicio de archivo del Centro Estatal de Oncología y del Hospital Regional IMSS, se solicitaron los expedientes clínicos de las pacientes, con la finalidad de verificar que cumplieran con los criterios de inclusión. Los casos seleccionados, se enviaron al Hospital Infantil de México “Federico Gómez”, donde se

realizó la construcción de microarreglo de tejidos, los cortes histológicos y mediante inmunohistoquímica, se determinó la expresión de PRLR.

### **8.6.1 Montaje del microarreglo de tejidos**

La construcción del microarreglo de tejidos se realizó tomando tres microbiopsias de tejido tumoral (previamente identificado en el microscopio de la laminilla teñida con HEs de cada bloque de tejido embebido en parafina de las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama (bloque donador). Posteriormente se realizó el análisis y preparación de los bloques donantes: se tomaron laminillas para tinción con hematoxilina y eosina de referencia en todos los bloques donadores y se realizó el marcaje con un marcador indeleble las zonas de interés (focos múltiples del tumor). Se diseñó una plantilla y un archivo con los números de identificación de los tejidos junto con su localización y coordenadas reales en el microarreglo. La distancia entre las muestras fue de 0.2mm para facilitar la revisión al microscopio. Después se realizó la preparación del bloque receptor: se derritió la parafina a 60°C, se filtró y vació en un molde de acero, se colocó en un cassette de plástico con ranuras en la parte superior de la parafina tibia, los bloques de parafina se enfriaron por 2 h a temperatura ambiente y luego 2 h a 4°C, posteriormente los bloques se removieron de los moldes.

Posteriormente se localizó en los bloques donadores las muestras a adquirir mediante un microarreglador semiautomático (ATA-100). Se colocaron las laminillas teñidas con hematoxilina-eosina en el microscopio del microarreglador localizando la zona punteada previamente, se realizaron perforaciones en un bloque de parafina vacío (bloque receptor) con una pequeña aguja más larga con un diámetro interno de 0.6 mm, se hicieron las perforaciones en el tejido del bloque donador, el cilindro de tejido obtenido fue transferido a las perforaciones realizadas previamente en el bloque receptor. Al concluir la colocación de los cilindros de tejido en el bloque receptor, el bloque fue calentado a 40°C por 10 min para que los cilindros que se insertaron, se fundieran con la parafina. Una vez contruidos los bloques receptores (Figura 5), con un micrótopo estándar, se seccionaron en láminas de 4 micras de espesor y se colocaron en laminillas electrocargadas y se realizó la inmunohistoquímica con el anticuerpo anti-PRLR (clona 1A2B1).



**Figura 4. Microarreglo de tejidos con los 310 casos de Cáncer de mama (CM).**

#### **8.6.2 Inmunohistoquímica para la detección de PRLR**

Se realizó siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Americana de Oncología Clínica y el Colegio Americano de Patólogos (Vaquero M., 2007). Los tejidos se colocaron en formol amortiguado al 10% y se incluyeron en bloques de parafina. Se realizaron cortes histológicos de 3-4  $\mu\text{m}$  con ayuda de un microtomo y se colocaron en laminillas previamente tratadas con poli-L-Lisina y secadas a 60°C durante 30 min. Los cortes se desparafinaron en la el horno durante 30 min a 60°C, luego se hidrató el tejido en un tren de solventes: xilol durante 8 min, xilol por 8 min, etanol-xilol por 8 min, etanol al 100% por 5 min, etanol al 100% por 5 min, etanol al 90% 5 por min, etanol al 70% por 5 min, y agua destilada por 5 min.

Las laminillas se colocaron en una solución amortiguadora de recuperación de antígeno, citrato 0.01M, pH=6.0; y se incubaron en una olla a presión a 15 lb (120°C) durante 20 min, se dejaron enfriar a temperatura ambiente durante 20 minutos, posteriormente se retiró la solución de citratos y se lavó con agua destilada, se colocaron en una rejilla para laminillas con solución amortiguadora de fosfatos (PBS), procurando en los siguientes pasos que la laminilla se mantuviera húmeda. Se bloqueó la peroxidasa endógena con la adición de 100  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrógeno al 0.3 % en PBS por 15 minutos en agitación, este procedimiento se realizó 2 veces. Posteriormente se bloqueó la unión no específica de los anticuerpos a las células, incubando las muestras con leche sin grasas durante 1 h a temperatura ambiente en cámara húmeda.

Se retiró la leche y se lavó con PBS en agitación por 5 min, se eliminó el excedente de PBS con una gasa y se colocó una gota de anticuerpo monoclonal de ratón anti-humano anti-PRLR (clona 1A2B1, Invitrogen) dilución 1:250.

Se incubó toda la noche a temperatura ambiente en cámara húmeda y en agitación suave, se lavó 5 veces con PBS en agitación por 8 min, se eliminó el excedente de PBS con una gasa y se colocó una gota de anticuerpo secundario de conejo con peroxidasa (Vector) se incubó por 30 min en cámara húmeda a temperatura ambiente y en agitación suave, se lavó 3 veces con PBS en agitación por 5 min y se añadió diamino bencidina, durante 10 min y en oscuridad, lo que generó una coloración sepia en las regiones inmunorreactivas. Finalmente, se lavaron y contrastaron con hematoxilina de Harris durante cinco min. Como control negativo se emplearon los mismos cortes pero sin agregar el anticuerpo primario.

### **8.6.3 Evaluación de la técnica inmunohistoquímica**

Se realizó análisis semicuantitativo de la expresión del PRLR, en las microfotografías digitalizadas en el programa ImageScope de Aperio (Leica biosystems, Buffalo Grove, IL. USA). Dos patólogos de manera independiente revisaron los casos, determinando expresión positiva una tinción de membrana en más del 10% de células malignas (Hachim *et al.*, 2016). Posteriormente se realizó un análisis cuantitativo mediante el software Aperio ScanScope CS2 (Leica biosystems, Buffalo Grove, IL. USA), se digitalizaron las laminillas y un algoritmo específico capaz de captar y categorizar las intensidades como tinción leve, moderada y fuerte, así como el porcentaje de área tumoral. Una vez obtenidos estos datos, se realizó la suma total y promedio de intensidades y se dividió entre el porcentaje total de área.

### **8.6.4 Análisis Estadístico**

Las medidas de tendencia central, desviación estándar y frecuencias se calcularon utilizando el programa estadístico IBM SPSS. La expresión del PRLR entre el grado histológico, tipo molecular y estadio clínico se analizaron mediante la prueba estadística no paramétrica Kruskal- Wallis. Para el análisis de supervivencia se utilizaron las curvas de Kaplan y Meier (Log-rank). La diferencia entre dos poblaciones se consideró significativa con intervalos >95% ( $p < 0.05$ ).

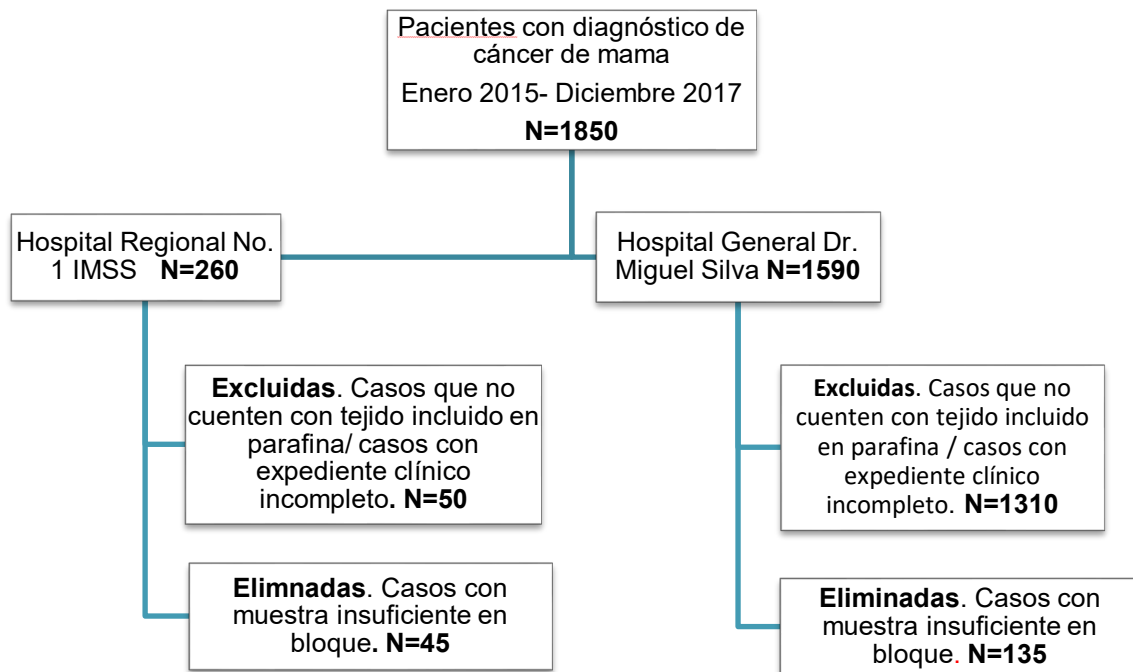
## **IX. CONSIDERACIONES ÉTICAS**

Las pautas éticas internacionales para la investigación relacionada con la salud en seres humanos, el código de Núremberg y la declaración de Helsinki regulan a la comunidad médica en lo relativo a los preceptos de ética en la investigación, donde el principio básico es el respeto por el individuo, su derecho a tomar decisiones una vez que se le ha informado claramente los riesgos y beneficios de su participación o no en un estudio de investigación médica, el aceptar participar debe ser de manera libre, sin presiones de ninguna índole y con compromiso de que puede retirarse de la investigación cuando así lo decida. Otro precepto es que el bienestar del sujeto siempre debe estar por encima de los intereses de la ciencia y de la sociedad (OMS, 2016).

La presente investigación contemplará el uso de bases de datos, expedientes clínicos y bloques de biopsias de las pacientes del Hospital General Regional No. 1 del IMSS y del Hospital General "Doctor Miguel Silva", sin requerir la intervención de individuos en el estudio, por lo que fue considerado de un riesgo mínimo, según lo estipulado en el reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud y en el artículo 23 del reglamento antes mencionado.

## X. RESULTADOS

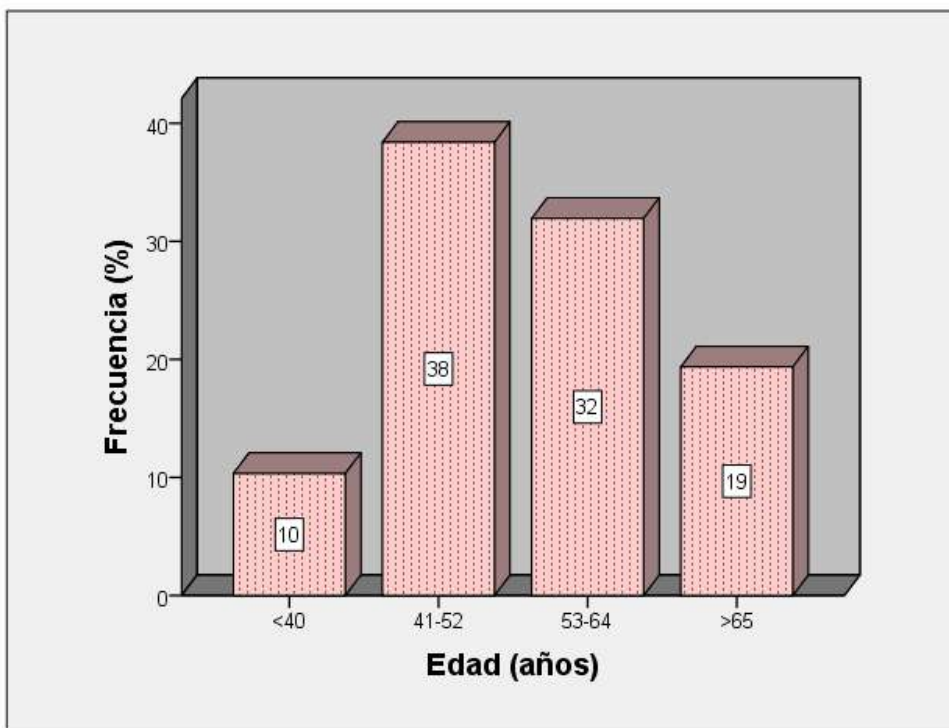
Se revisaron 1883 casos de mujeres con cáncer de mama registrados en el periodo de enero 2015 a diciembre del 2017 en la base de datos del departamento de Anatomía Patológica del Hospital General “Dr. Miguel Silva” y del Hospital Regional N°1 IMSS. Consecutivamente se realizó la revisión de los casos que tuvieron resultado de IHQ para receptores de estrógeno, progesterona, HER2, así como suficiente muestra en tejido embebido en parafina, expediente clínico completo, quedando 310 casos incluidos en los microarreglos tisulares (Figura 5).



**Figura 5. Organigrama de la muestra total, de acuerdo a los criterios de inclusión, exclusión y eliminación.**

### 10.1 Estadística descriptiva de la población de estudio

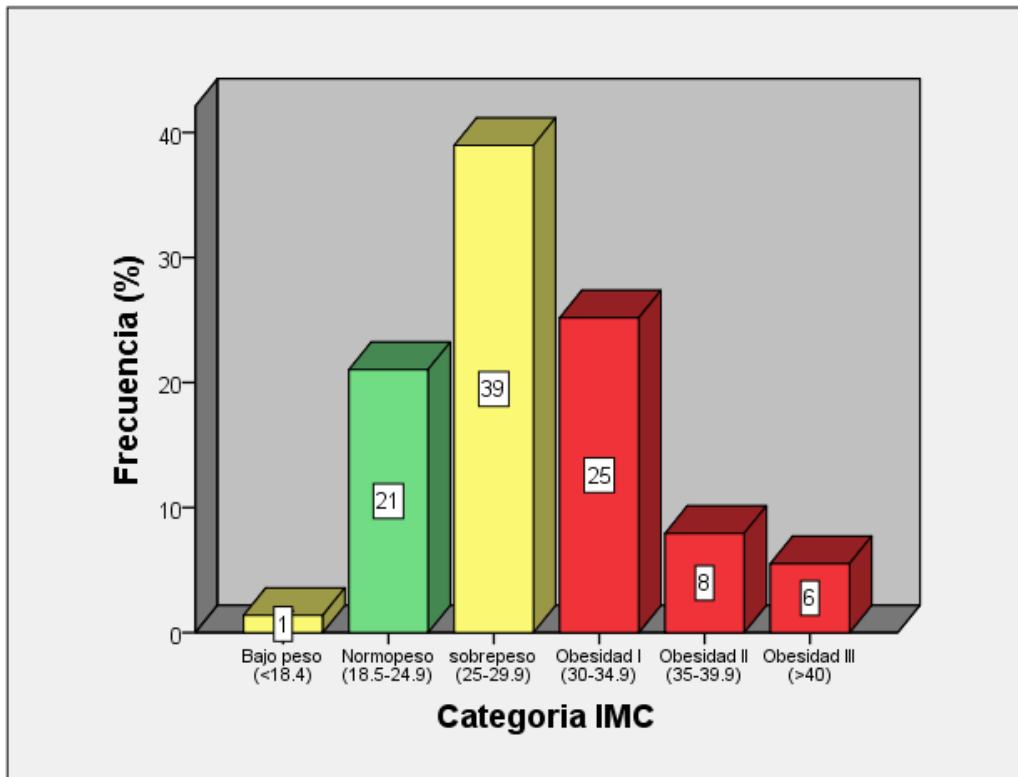
La edad media al diagnóstico fue de 54.1 años (rango 25-89). En la Figura 6 se muestra la distribución por grupos de edad, siendo el grupo entre los 41-52 años que presentó mayor cantidad de casos, seguido por el grupo de 53-64 años.



**Figura 6. Distribución del cáncer de mama por grupos de edad.** Grupo con mayor número de casos de 41-52 años de edad.

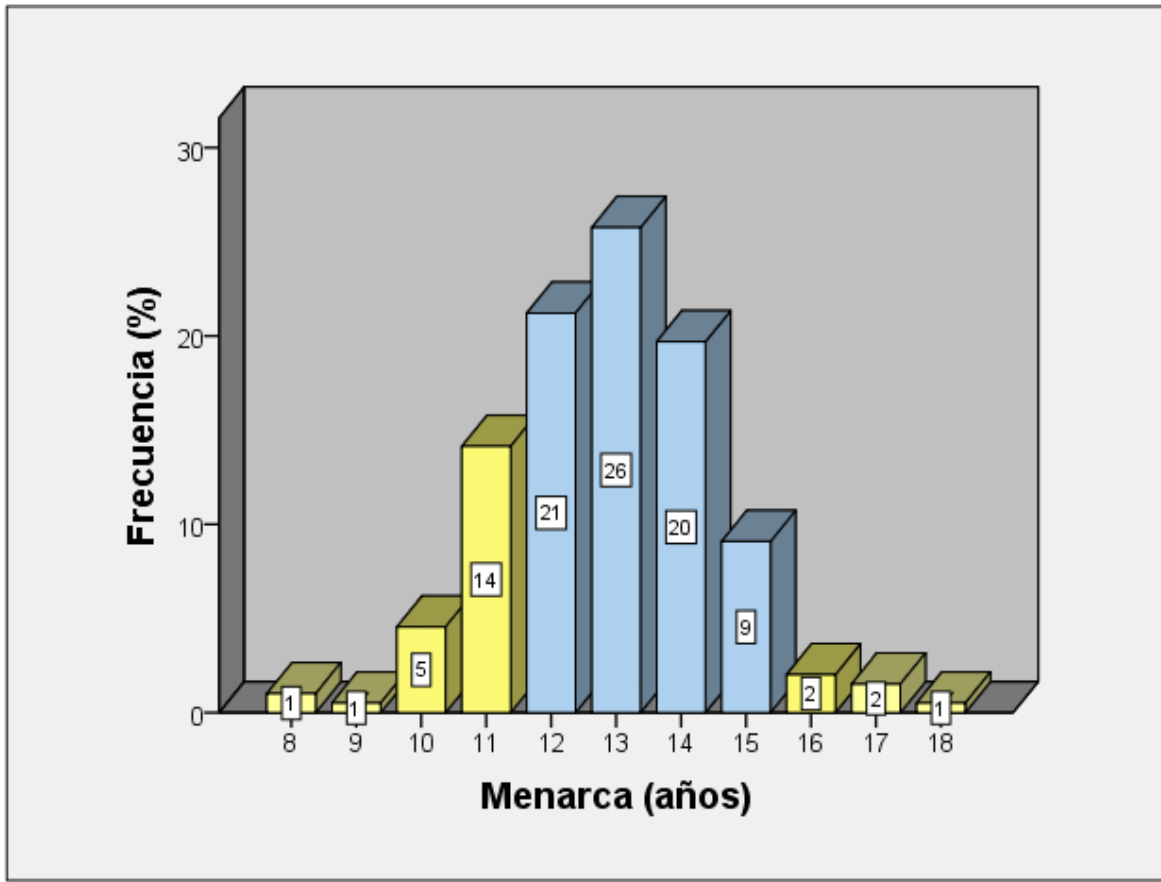
La mama izquierda se vió afectada en 171 casos (55.3%), 137 casos (44.3%) en la mama derecha y un caso con afección bilateral (0.3%). El cuadrante superior externo fue afectado principalmente en 190 casos (65.1%), seguido por el cuadrante superior interno 29 casos (9.9%).

La mediana del IMC de las pacientes fue de 28.6 kg/m<sup>2</sup>. En 61 casos (21%) se presentó normopeso, en 113 casos (39%) sobrepeso, mientras que 64 casos (38.6%) presentó algún grado de obesidad (Figura 7).



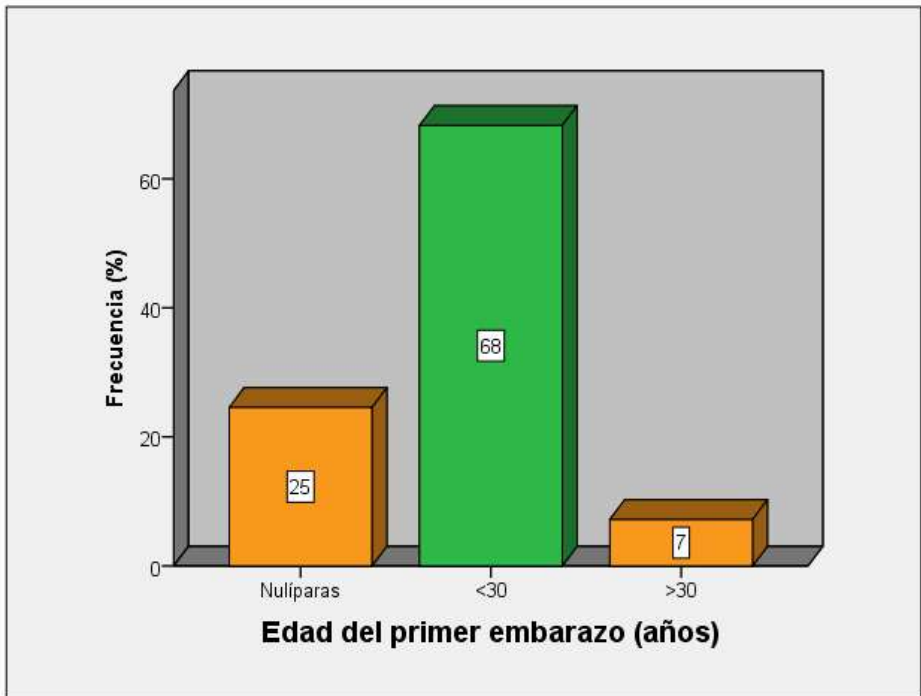
**Figura 7. Distribución de acuerdo al índice de masa corporal (IMC).** El grupo predominante fue sobrepeso (39%), mientras que el de menor incidencia fue el bajo peso (1%).

La menarca temprana ocurrió en 40 casos (20.1%), menarca normal entre los 12 y 16 años en 154 casos (77.8%) (Figura 8). En cuanto al estado hormonal, 194 casos (62.6%) fueron menopáusicas y 116 casos (37.4%) premenopáusicas.

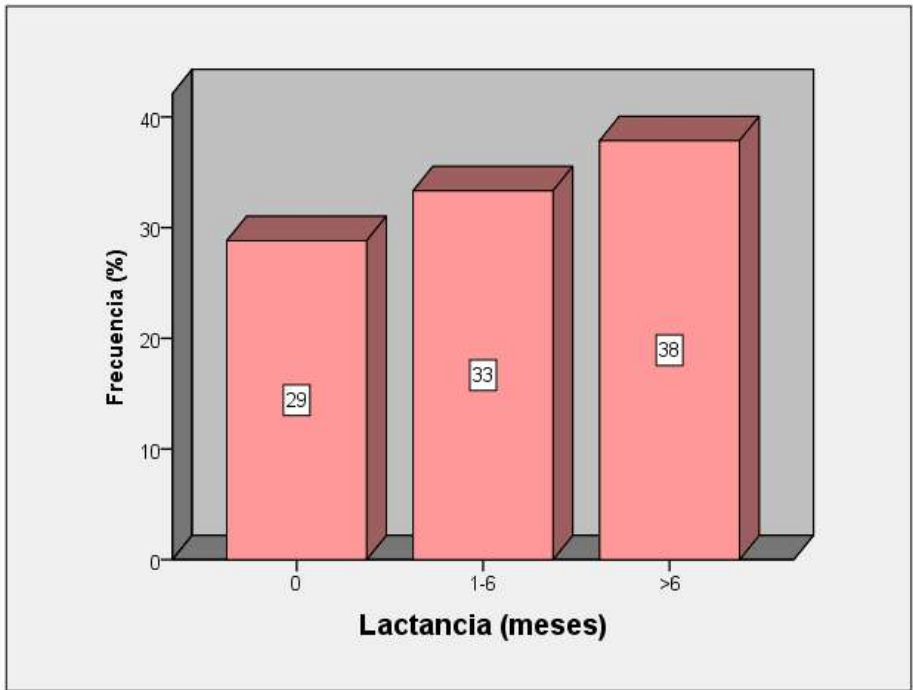


**Figura 8. Distribución por edad de la primera menstruación.** La mayor parte de las pacientes presentó una menarca normal.

La edad del primer del embarazo antes de los 30 años se encontró en 114 casos (68.2%), posterior a los 30 años en 12 (7.1%) y el resto nulíparas (Figura 9). En 110 casos (62%) la duración de lactancia fue menor a 6 meses o no lactó (Figura 10).



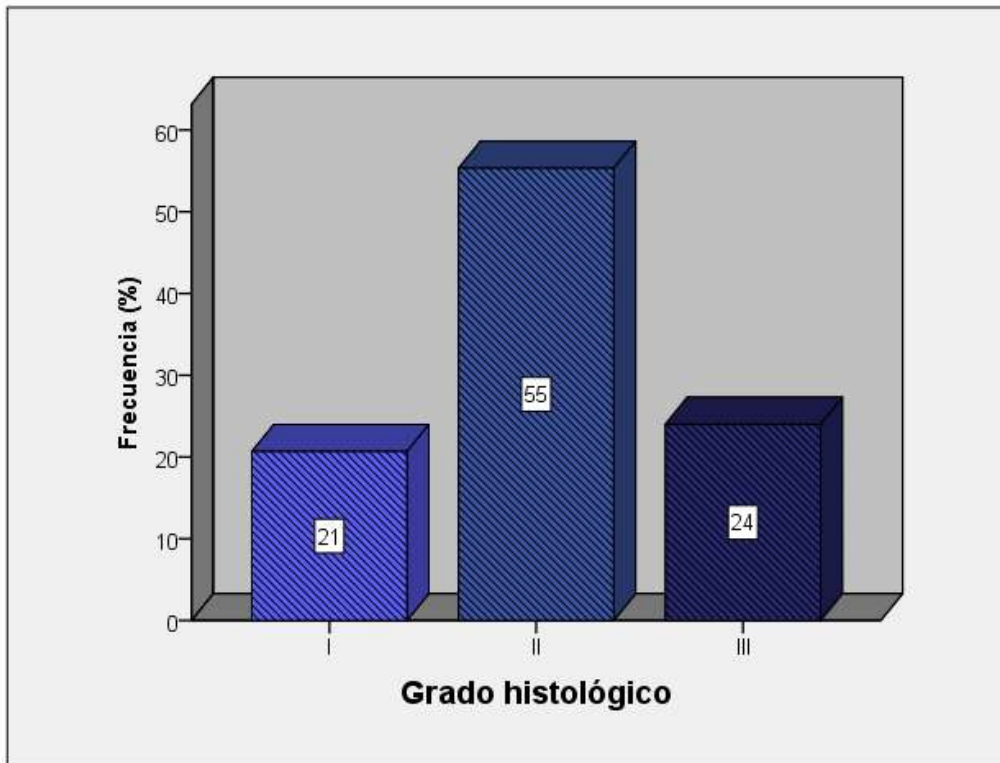
**Figura 9. Distribución por edad del primer embarazo.** En naranja los casos con mayor riesgo.



**Figura 10. Distribución de lactancia por meses.** Tan sólo el 38% lactaron por más de 6 meses, considerado factor protector.

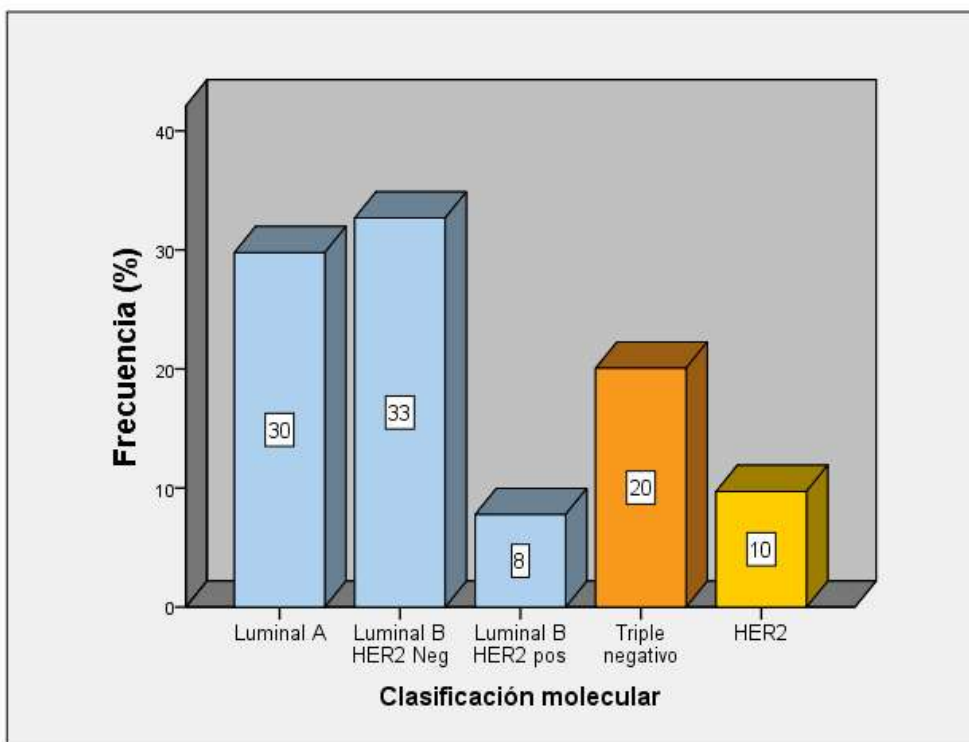
**1. Objetivo. Clasificar los casos de cáncer de mama por tipo histológico, molecular y TNM.**

El tipo histológico más frecuente fue el carcinoma ductal infiltrante (86.9%), el 2.6% lobulillar, 2% mucinoso, 2% mixto, 1.3% papilar y el resto otro tipo histológico. De acuerdo al SBR, el grado histológico predominante fue el moderadamente diferenciado, seguido del pobremente diferenciado y por último el bien diferenciado (Figura 11).



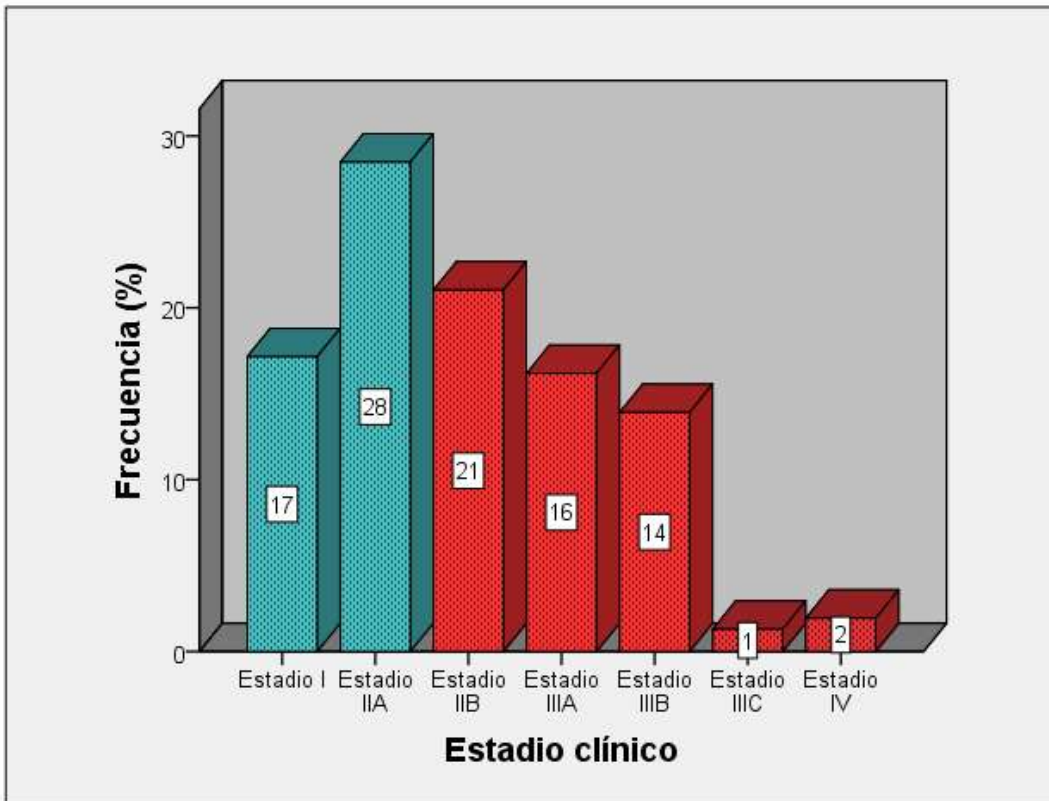
**Figura 11. Distribución del cáncer de mama por grado histológico.** A mayor grado histológico peor pronóstico.

En cuanto a la clasificación molecular de acuerdo al Consenso Mexicano sobre el diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019), el tipo más frecuente fue el Luminal B HER2 negativo con 101 casos (32.7%), el de menor expresión el Luminal B HER2 positivo con 24 (7.8%) (Figura 12).



**Figura 12. Clasificación molecular del cáncer de mama.** Se observan los 5 subtipos moleculares en los cuales se clasifica el cáncer de mama. Todos los tumores con expresión de receptores hormonales se etiquetaron con las barras azules, los tumores triple negativos (barra naranja) y los casos con sobreexpresión de HER2 (barra amarilla).

De acuerdo a la clasificación de American Joint Committee on Cancer (Giuliano *et al.*, 2017), 62 casos (20.1%) presentaron un tumor palpable <2cm (T1), 152 casos un tumor entre 2 y 5 cm (51.5%), 39 casos con un tumor mayor a 5 cm (12.6%), 48 casos con cualquier tamaño tumoral más infiltración a piel (T4) y sólo un caso carcinoma *in situ* (0.3%). El 46.9% de los casos no tenía afección a ganglios axilares (N0), 32.4% presentó afección a ganglios axilares homolaterales (N1), el 19.1% conglomerado glomerular (N2) y el 1.6% restante afección a ganglios infra y supraclaviculares (N3). Tan solo 6 de los casos tenían metástasis. En cuanto al estadio clínico, el IIA fue el más frecuente con un total de 88 casos (28.5%), seguido por el estadio IIB con 65 casos (21%) (Figura 13).



**Figura 13. Distribución del cáncer de mama por estadio clínico.** El 54% de los casos se presentaron en estadios localmente avanzados (estadios IIB a IV).

### **10.1.1 Evolución clínica**

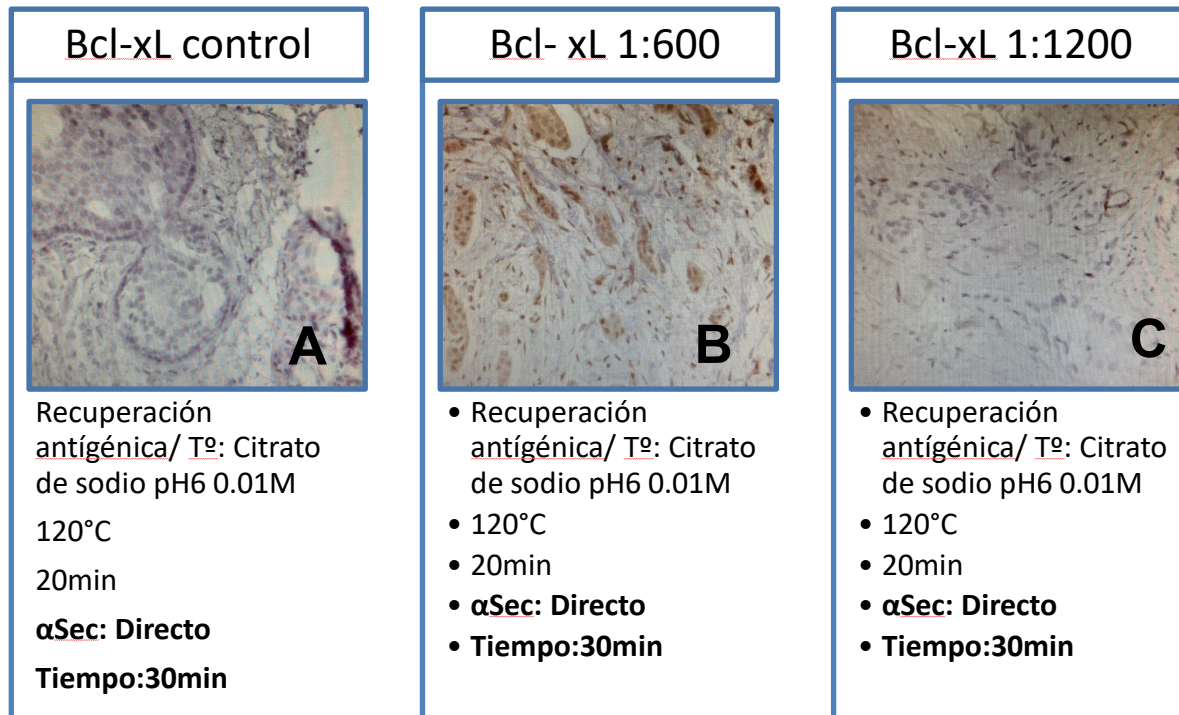
La media de meses de evolución de las pacientes fue de 41.7 meses, rango (1-76 meses). El 72.9% de la población de estudio se encontró libre de enfermedad, el 9.7% presentaron recidiva, 6.5% defunción y el 11% abandonaron el tratamiento.

## **2. Objetivo. Analizar la expresión de PRLR en muestras histológicas de pacientes con cáncer de mama**

### **2a) Estandarización de la inmunohistoquímica**

En laminillas con cortes de tejido de cáncer de mama, se realizó la inmunohistoquímica, usando como anticuerpo primario el anticuerpo monoclonal de conejo anti-humano Bcl-xL (54H6), una laminilla fue un control negativo y no se aplicó anticuerpo primario (Figura 14A), en la segunda se aplicó una dilución del primario 1:600 (Figura 14B), en la tercera laminilla se colocó una dilución 1:1200 (Figura 14C) y en las 3 laminillas la aplicación del anticuerpo secundario fue directa.

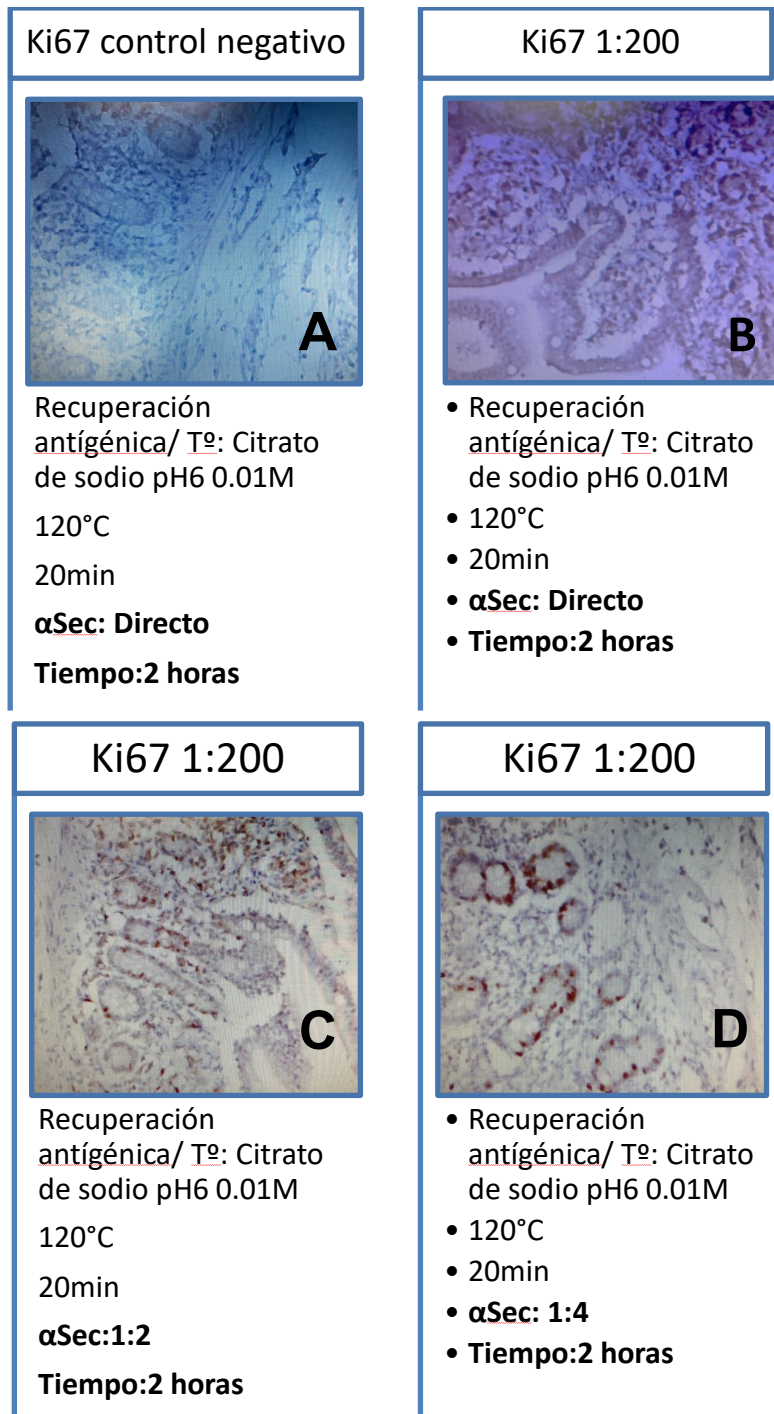
Obtuvimos como resultado una tinción adecuada a una dilución 1:600 y más específica en 1:1200, sin embargo, se observó tinción inespecífica en el control, atribuyendo este fenómeno al excedente del tiempo de revelado con diaminobencidina, el cual fue de 1 a 2 min, por lo que decidimos buscar una dilución del secundario y tratar de saturar nuestra reacción, el tiempo de revelado a 10 min y así el tiempo no intervenga en la expresión del marcador.



**Figura 14. Estandarización de la inmunohistoquímica en tejido de cáncer de mama con Bcl-xL.** La microfotografía A es el control negativo, se visualiza leve tinción en color marrón, la microfotografía B presenta tinción específica e inespecífica, la microfotografía C con tinción específica.

En un segundo ensayo se utilizaron 4 cortes histológicos de cáncer de mama, a una dilución del anticuerpo primario Bcl-xL de 1:1200 en los 4 y se estandarizó la dilución del anticuerpo secundario a 1:10, 1:50, 1:100 y 1:300 con un tiempo de incubación de 2 h, obteniendo un resultado negativo.

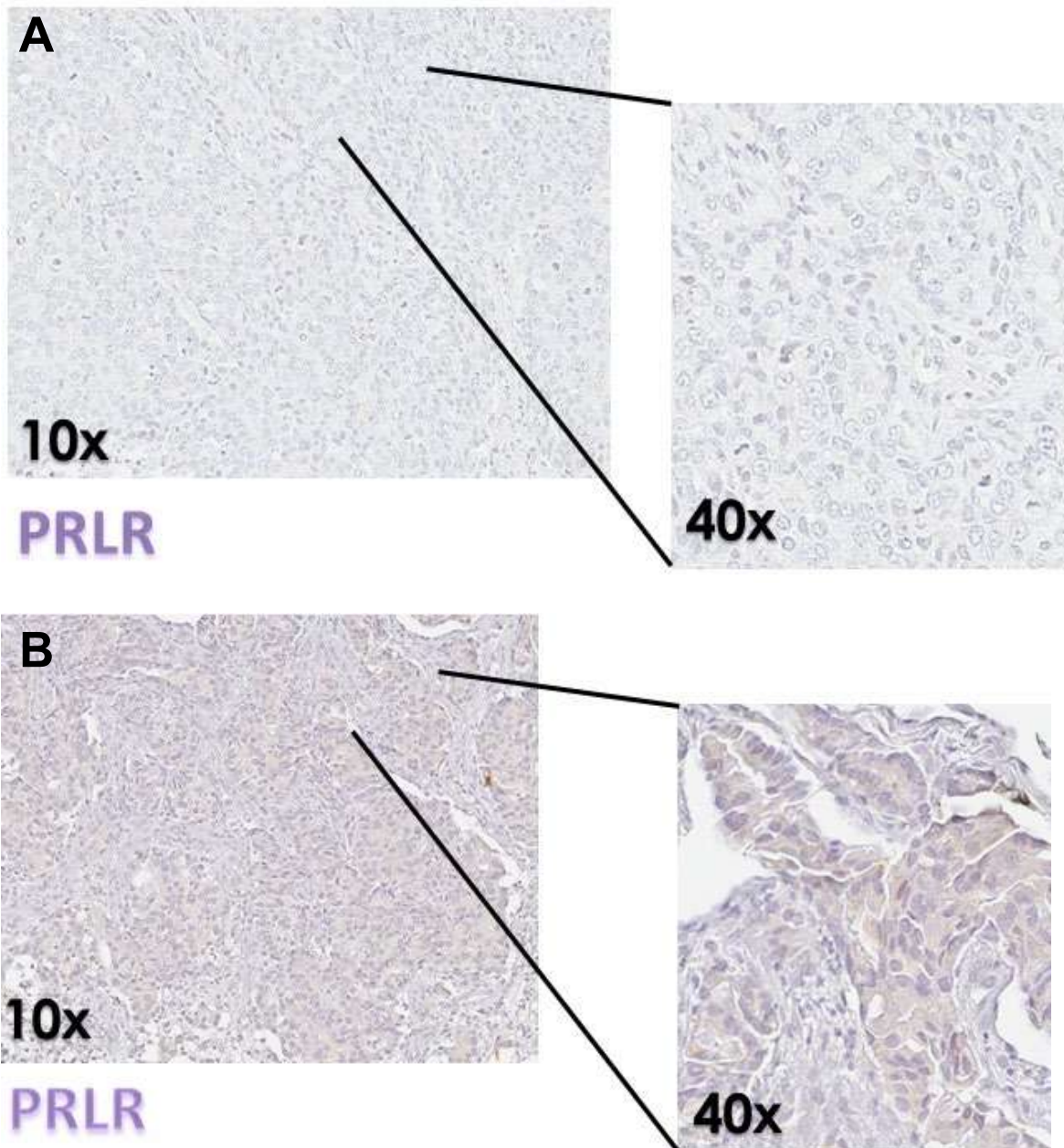
En un tercer ensayo se utilizaron 4 laminillas con cortes histológicos de intestino y el anticuerpo monoclonal Ki67 a una dilución 1:200, a la primera laminilla no se le colocó el anticuerpo primario siendo el control negativo (Figura 15A), en la segunda laminilla se aplicó el anticuerpo secundario de manera directa (Figura 15B), la tercera a una dilución 1:2 (Figura 15C) y en la cuarta 1:4 (Figura 15D). Determinando una dilución 1:4 del anticuerpo secundario como adecuada y específica.



**Figura 15. Estandarización de la inmunohistoquímica en tejido de intestino con Ki67.** La microfotografía A es el control negativo, la microfotografía B presenta tinción inespecífica, la microfotografía C y D con tinción marrón específica.

## 2b) Inmunohistoquímica PRLR

La detección de PRLR en los microarreglos de tejidos se realizó a una dilución de 1:250 del anticuerpo monoclonal de ratón anti-humano anti-PRLR (clona 1A2B1, Invitrogen) (Figura 16).



**Figura 16. Expresión del PRLR en corte histológico de cáncer de mama.** En la microfotografía A no se visualiza tinción positiva para PRLR, en la microfotografía B se visualiza tinción en marrón específica.

**3. Objetivo. Correlacionar la expresión de PRLR con tipo histológico, molecular, TNM y estado clínico de las pacientes.**

**3a) Asociación de la expresión de PRLR con tipo histológico**

Al analizar la expresión de membrana del PRLR en relación al tipo histológico, no se encontró diferencia estadísticamente significativa ( $P=0.18$ ), (Tabla 3).

**Tabla 3. Asociación de la expresión de PRLR con parámetros clínico patológicos**

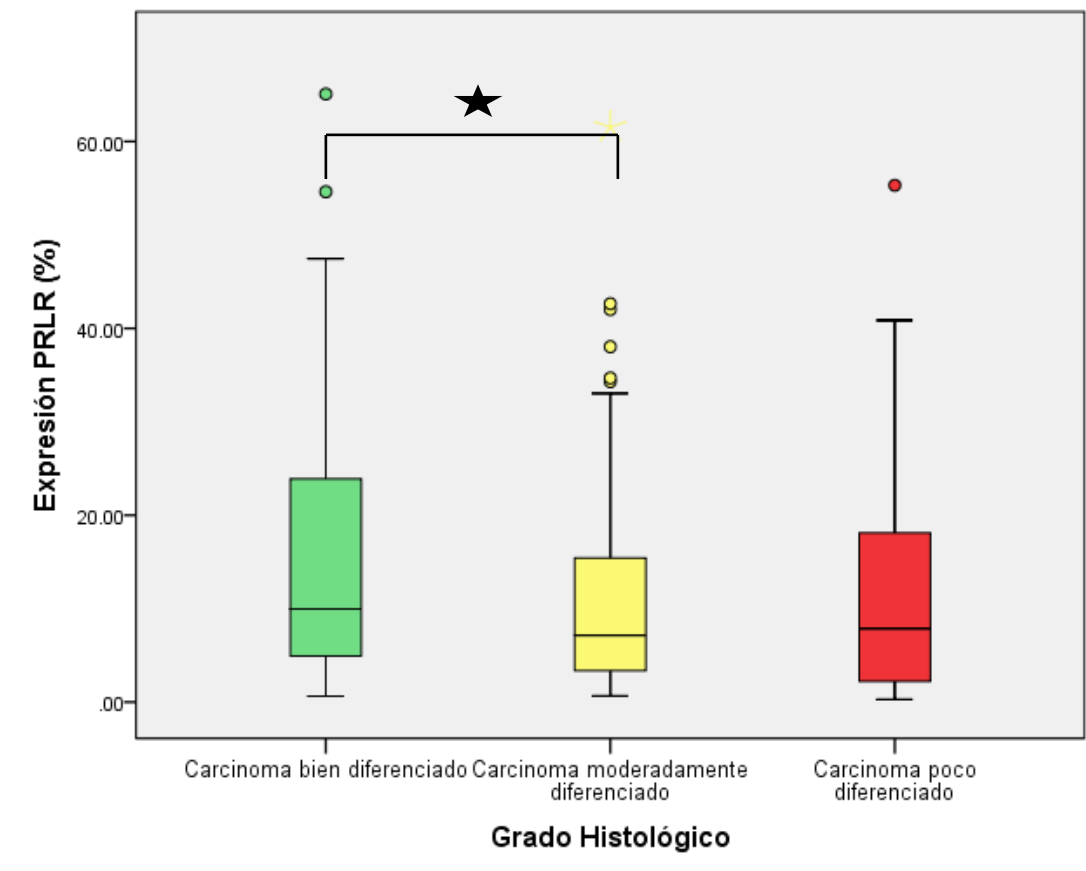
Patología	N	Rango promedio	P
Tipo histológico			
Ductal invasor	246	142.50	0.18
Lobulillar invasor	8	131.63	
Otro	24	111.42	
Grado histológico			
1	58	155.22	0.04
2	151	132.41	
3	65	133.52	
Clasificación molecular			
Luminal A	83	143.47	0.97
Luminal B HER2-	93	136.84	
Luminal B HER2+	21	139.19	
Triple negativo	59	141.64	
HER2	25	148.30	
Estadio Clínico			
I	49	147.90	0.16
IIA	82	135.78	
IIB	59	123.89	
IIIA	43	127.49	
IIIB	38	156.99	
IIIC	4	203.00	
IV	6	11.58	
T (tamaño tumor)			
T0	1	68.00	0.02
T1	58	150.11	
T2	146	127.50	
T3	33	153.97	
T4	43	166.30	

N (afectación ganglionar)			
N0	132	145.72	
N1	92	132.151	0.29
N2	52	139.52	
N3	5	194.80	
M (metástasis)			
M0	274	141.16	0.36
M1	6	110.58	
Estado Actual			
Libre de enfermedad	214	127.76	<b>0.03</b>
Recidiva	50	152.59	
Permeación Linfovascular			
Presente	101	75.46	<b>0.01</b>
Ausente	63	93.79	
Lactancia			
No lactó	45	66.79	
1-6 meses	58	87.23	<b>0.02</b>
>6 meses	60	88.35	

N= cantidad de casos, P= significancia estadística mediante Kruskal- Wallis.

### **3b) Asociación de la expresión de PRLR con grado histológico**

Al determinar la relación entre la expresión de PRLR con el grado histológico, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P=0.04$ , Figura 17 y Tabla 3), por lo que existe una mayor expresión del PRLR en los tumores bien diferenciados grado 1 comparado con los tumores moderadamente diferenciados grado 2.



**Figura 17. Relación entre la expresión de PRLR con el grado histológico.** Se observa una mayor expresión de PRLR en carcinomas bien diferenciados comparado con el moderadamente diferenciado.

**3c) Asociación de la expresión de PRLR con el subtipo molecular**

La relación entre la expresión de PRLR con los subtipos moleculares, la expresión fue muy parecida en todos los grupos, por lo que no se encontró diferencia estadísticamente significativa ( $P=0.97$ , Tabla 3).

**3d) Asociación de la expresión de PRLR con el estadio clínico**

La relación entre la expresión de PRLR con el estadio clínico, no fue estadísticamente significativa ( $P=0.16$ , Tabla 3). Sin embargo, al analizar por separado las variantes que constituyen el TMN (Tabla 3), se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la expresión de PRLR con el tamaño tumoral ( $P=0.03$ ), pero no con afección ganglionar ( $P=0.29$ ) ni con metástasis ( $P=0.36$ ).

**3e) Asociación de la expresión de PRLR con el estado actual de la paciente**

La asociación de la expresión del PRLR con el estado actual de la paciente, fue estadísticamente significativa ( $P=0.03$ , Tabla 3), existiendo una mayor expresión de PRLR en pacientes con recidiva.

### 3f) Análisis de la supervivencia global en relación a PRLR

En la curva de supervivencia de Kaplan- Meier para PRLR membranar, no existió diferencia estadísticamente significativa entre supervivencia y la expresión del PRLR (Log Rank 1.374,  $P= 0.24$ , Figura 18).

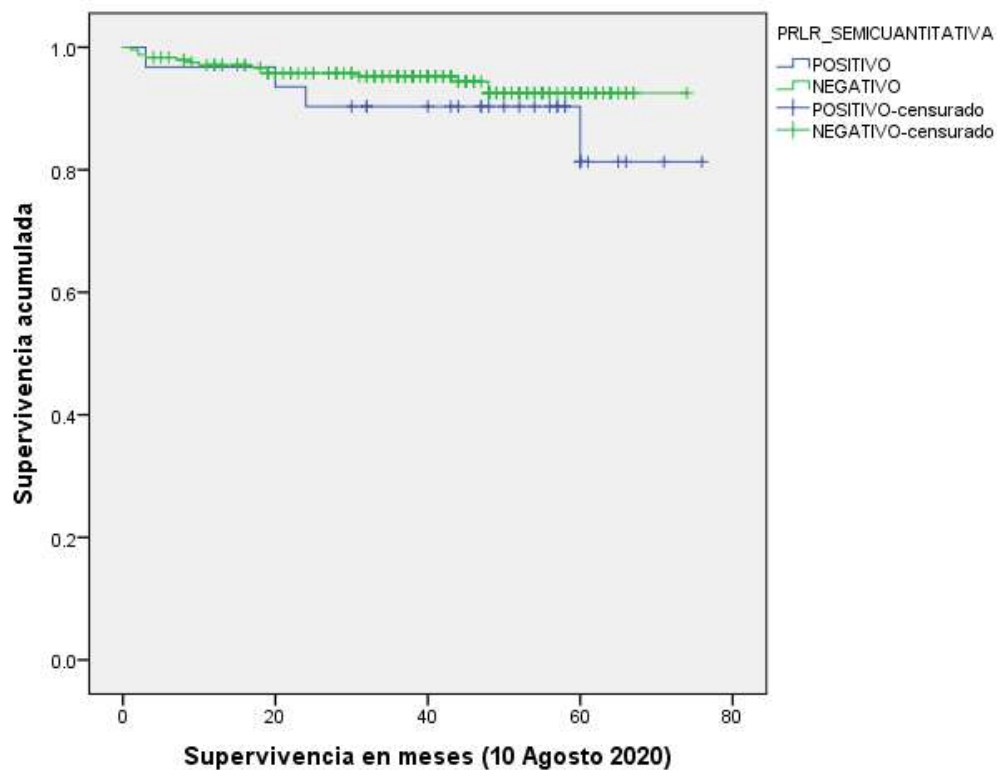


Figura 18. Curva de supervivencia global en pacientes con cáncer de mama de acuerdo a la expresión de PRLR.

## XI. DISCUSIÓN

El cáncer de mama es el tumor maligno más común en las mujeres y una de las principales causas de muerte. Varios factores contribuyen a su aparición, después del sexo, la edad es el factor de riesgo más importante. La edad de presentación del cáncer de mama en mujeres mexicanas antecede una década comparado con las mujeres norteamericanas y europeas (Bosch, 2001; Rohrmann *et al.*, 2015; Rojas & Stuckey, 2016). En nuestro estudio la edad media al diagnóstico fue de 54.1 años; existen hipótesis que tratan de explicar éste fenómeno, por ejemplo, factores ginecológicos, como la menarca temprana (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019). Las mujeres que menstrúan a edad temprana tienen ciclos menstruales regulares y ovulatorios en etapas más tempranas que las mujeres cuya menarca se inicia después de los 12 años (Secretaría de Salud, 2008), lo cual sugiere que las concentraciones altas de progesterona relacionadas con las concentraciones normales o elevadas de estradiol en la pubertad incrementan el riesgo de cáncer de mama al ser partícipes de la proliferación celular en la glándula mamaria. En nuestra población tan solo el 20.1% presentó menarca temprana, concordando con un estudio realizado en el Hospital Juárez de México (Luján *et al.*, 2006) que encontraron una menarca temprana en el 12.1% de su población de estudio por lo que no hubo correlación entre la menarca temprana como factor de riesgo de cáncer de mama. Nosotros consideramos que la diferencia en la edad de presentación se puede explicar porque en la mujer mexicana existe una mayor frecuencia de antecedentes heredofamiliares de cáncer de mama y ovario comparado con la población norteamericana y anglosajona (Knaul *et al.*, 2009), así como al estilo de vida, relacionado con una dieta carencial en México y un aumento en el tabaquismo.

La lactancia materna es un factor protector contra el cáncer de mama, éste efecto protector incrementa con el aumento de la duración de la lactancia (Momenimovahed & Salehiniya, 2019). La incidencia del cáncer de mama desciende de 6.3 al 2.7% si las mujeres lactan por más de 6 meses (IMSS, 2020). El 72.3% de nuestra población lactó y se asoció a mayor expresión del PRLR ( $P = 0.02$ ), lo cual sugiere que el PRLR puede ser un factor de buen pronóstico en las pacientes con cáncer de mama. Sin embargo, será necesario aumentar el tamaño de muestra y el tiempo de seguimiento de las pacientes para ver si se mantiene esta asociación. Faupel y colaboradores en

un estudio realizado en una población de Polonia, no encontraron una asociación significativa entre lactancia y la expresión del PRLR (Faupel-badger *et al.*, 2013).

De acuerdo a la Sociedad Americana de Cáncer, la Sociedad Española de Oncología Médica y el Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario, el tipo histológico más frecuente es el carcinoma ductal infiltrante, al igual que en nuestra población de estudio. Cabe destacar que la incidencia del tipo histológico lobulillar de nuestra población fue menor (2.6%) contrastado con los datos reportados en el Consenso de Colima (10%) (Cárdenas-Sánchez *et al.*, 2019), lo cual es benéfico para nuestra población ya que éste tipo histológico es más agresivo y por lo tanto de peor pronóstico comparado con el ductal (Fabiola *et al.*, 2015). Conforme al estadio clínico, en nuestra población de estudio no encontramos pacientes con diagnóstico de carcinoma *in situ* y la mayor parte se diagnosticó en estadios localmente avanzados, por lo cual es necesario enfatizar en los métodos de tamizaje y promoción de la salud para poder diagnosticar a las pacientes en estadios más tempranos y brindar un tratamiento más oportuno y menos invasivo.

Es evidente la función de la señalización del receptor de prolactina en la promoción del desarrollo y diferenciación de la glándula mamaria (Swaminathan *et al.*, 2008). No obstante, su función en la carcinogénesis mamaria sigue siendo poco clara y controvertida. Se ha detectado la expresión de PRLR en líneas celulares de cáncer de mama, biopsias de tumores de mama, lesiones benignas de mama, incluyendo la ectasia ductal y mastopatía fibroquística (Kavarthapu *et al.*, 2014; Johnston *et al.*, 2018; Abramicheva & Smirnova, 2019). Varios estudios han demostrado que la activación de PRLR puede promover la proliferación, supervivencia y angiogénesis de células neoplásicas en mama (Sutherland *et al.*, 2016; Shemanko, 2016). Sin embargo, otros estudios han identificado al PRLR como un potencial supresor de la oncogénesis mamaria, al ser partícipe en la vía de señalización PRL/PRLR/JAK2/STAT5, favoreciendo la supresión de la transición epitelial-mesenquimal y reduciendo las propiedades invasivas de las células del cáncer de mama (Hachim *et al.*, 2016; Motamedi *et al.*, 2020; Shams *et al.*, 2021). El objetivo de este estudio fue analizar la expresión de PRLR en cáncer de mama y correlacionar su expresión con el tipo histológico, molecular, estadio clínico y pronóstico.

En el presente estudio, no encontramos relación estadísticamente significativa entre la expresión de PRLR con el tipo histológico, concordando con lo reportado por Faupel *et al* (2013) de un total de 713 casos  $p=0.35$ , esto puede deberse a que en su mayoría los tipos histológicos en nuestra población fueron ductales y lobulillares, los cuales están constituidos en su mayoría por mismos tipos celulares.

Nuestros resultados revelaron una asociación entre la expresión de PRLR y tumores bien diferenciados ( $P=0.04$ ). En tumores epiteliales sólidos, la importancia del estado de diferenciación tumoral se ha conocido durante mucho tiempo como un marcador clínico fundamental para predecir el comportamiento tumoral. De hecho en el cáncer de mama, se ha propuesto que la metástasis y la recurrencia sean consecuencia de la pérdida de diferenciación celular tumoral y del aumento de plasticidad con pérdida de características luminales y epiteliales, y con ganancia de características mesenquimales/migratorias (Shams *et al.*, 2021). Extensos estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado la actuación indispensable de la hormona prolactina y su vía de señalización río abajo (PRLR/JAK2/STAT5) en la promoción de múltiples aspectos de la diferenciación mamaria y lactancia (Hachim *et al.*, 2016; Abramicheva & Smirnova, 2019). Estos datos destacan la función en favor de la diferenciación de la vía PRL-PRLR en la glándula mamaria normal y neoplásica.

PRLR se expresa en todos los subtipos moleculares de cáncer de mama, pero se asocia más frecuentemente con tumores receptor hormonal positivos (luminales) (Glasow *et al.*, 2015). Hachim *et al* (2019) y Glasow *et al* (2001) reportaron alta expresión de PRLR en carcinoma de mama de subtipo luminal en particular en los luminales A, Kavarthapu *et al* (2014) mostraron que PRLR y RE $\alpha$  se coexpresan en cáncer de mama. Nuestros resultados difieren de lo anterior dado que la expresión de PRLR fue similar en todos los subtipos moleculares y no mostraron una asociación significativa entre la expresión PRLR y el estado RE, RP o HER2. Lo cual sugiere que la expresión de PRLR es independiente del estado RE y por lo tanto la expresión de PRLR pudiese ser considerado un marcador pronóstico independiente.

No encontramos una asociación estadísticamente significativa entre la expresión de PRLR y el estadio clínico; sin embargo, de manera interesante al hacer el análisis por separado de la expresión de PRLR con el tamaño tumoral (T), afección ganglionar (N)

y metástasis (M), encontramos asociación estadísticamente significativa entre la expresión de PRLR y un aumento del tamaño tumoral ( $P=0.03$ ). Contrario a lo reportado por Faupel *et al* (2014) donde una disminución de la expresión de PRLR se asoció con un incremento del tamaño tumoral, por otra parte Glasow *et al* (2015) y Motamedi *et al* (2020) no encontraron asociación entre el tamaño tumoral y la expresión de PRLR. Estos resultados controversiales se podrían explicar por la existencia de diferentes clonas de anticuerpos de PRLR, se han realizado diversos estudios en los cuales se demuestra una diferencia en cuanto a sensibilidad y especificidad (Galsgaard *et al.*, 2009), lo cual crea un estrato adicional de complejidad con respecto a la realización de la inmunohistoquímica. En general es difícil atribuir las diferentes observaciones publicadas a cualquier clona de anticuerpo en la mayoría de los estudios, a menos que hubiera análisis de variantes de ARNm específicas.

Nuestros resultados revelaron que la expresión de PRLR ejerció un factor protector frente a la invasión linfovascular, similar a lo reportado por Nouhi *et al* (2006), quienes destacan al PRLR como un regulador crítico de la plasticidad epitelial y supresor de la invasión en cáncer de mama. No obstante otros autores reportaron en cáncer de mama RE+, que el aumento de colágeno tipo I puede desplazar al patrón de cascada de señalización PRLR/STAT5 hacia las vías ERK1/2 y AKT que impulsan la infiltración linfovascular y metástasis pulmonar (Barcus *et al.*, 2017). Pedraz-Cuesta *et al* (2016) determinaron que la señalización PRL/PRLR favorece la invasión a través de NHE1 en células de cáncer de mama (T47D). Los datos contradictorios sobre los efectos inducidos por PRLR sugieren que otros factores modulan la respuesta del PRLR, nosotros consideramos que el contexto celular y el microambiente pueden contribuir en la función y elección de la vía de señalización del PRLR.

La expresión de PRLR y la presentación de recidiva, fue estadísticamente significativa ( $P = 0.03$ ). Estudios realizados en modelos experimentales (Sutherland *et al.*, 2016) (Shemanko, 2016) asocian la expresión de PRLR con mal pronóstico al expresarse en situaciones de invasión tumoral, sin embargo estudios en población humana no demuestran dicha asociación, ésta discrepancia pudiese estar dada por el microambiente tumoral. Varios autores encontraron una asociación estadísticamente significativa entre la expresión de PRLR y la supervivencia libre de enfermedad (López-Ozuna *et al.*, 2016; Hachim *et al.*, 2016), Motamedi *et al* (2020) reportaron que

en tumores triple negativos la expresión de PRLR se asoció a una baja recurrencia y una mayor supervivencia global. Sutherland *et al* (2016) determinaron que la expresión alta de PRL y la isoforma larga de PRLR se asoció con un tiempo más corto para el inicio de metástasis óseas en cáncer de mama. Sin embargo, se han realizado estudios de fase I en los cuales se administró LFA102 un anticuerpo monoclonal humanizado contra PRLR, el cual no parece tener eficacia en pacientes con cáncer de mama avanzado (Hironobu, *et al*; 2020), la posible explicación a la falta de eficacia podría incluir que el PRLR no sea un factor oncogénico en el cáncer de mama o que se activen otras vías para eludir el efecto de los inhibidores de PRLR. Por lo tanto, mientras que PRLR puede contribuir al desarrollo inicial del cáncer de mama, también puede tener funciones específicas del contexto en la restricción de potencial metastásico en cáncer de mama.

## **XII. CONCLUSIONES**

- ❖ Los resultados de este estudio indicaron que PRLR se asocia de manera positiva con el grado histológico, en particular con tumores bien diferenciados, por lo que la expresión de PRLR podría utilizarse como marcador de buen pronóstico en las pacientes con cáncer de mama.
- ❖ La expresión de PRLR ejerce un factor protector frente a invasión linfovascular, lo cual podría explicar su función supresora en cáncer de mama.
- ❖ La expresión de PRLR se relacionó con lactancia, lo cual podría explicar la ventaja de fomentar la lactancia, contribuyendo al término de la diferenciación y generando una función protectora.
- ❖ La expresión de PRLR se asoció con recidiva, sin embargo se sugiere realizar el seguimiento del estado clínico de las pacientes por un periodo de tiempo mayor.

### **XIII. PERSPECTIVAS**

- ❖ Realizar PCR para identificación de isoformas específicas de PRLR y analizar su expresión en cáncer de mama y su asociación con parámetros clínicos, patológicos y moleculares, la razón de lo anterior es que las diversas isoformas generan desemejantes efectos hormonales.
- ❖ Analizar la expresión de PRLR en el microambiente tumoral y determinar el comportamiento de las células neoplásicas, ya que puede contribuir en la elección y funcionalidad de la vía de señalización.
- ❖ Analizar la expresión de STAT5 y su asociación con PRLR y los parámetros clínico- patológicos, con la finalidad de asociar la activación de una vía específica.
- ❖ Realizar seguimiento clínico de las pacientes a 10 años para evaluar la posible asociación en la supervivencia y/o recurrencia.

## BIBLIOGRAFÍA

1. American Cancer Society. (2012). Tasas de supervivencia del cáncer de seno. <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-seno/compreension-de-un-diagnostico-de-cancer-de-seno/tasas-de-supervivencia-del-cancer-de-seno.htm>
2. Abramicheva, P. A., & Smirnova, O. V. (2019). Prolactin Receptor Isoforms as the Basis of Tissue-Specific Action of Prolactin in the Norm and Pathology. *Biochemistry*, 84(4), 329–345. <https://doi.org/10.1134/S0006297919040011>
3. ACS. (2012). *Datos y Estadísticas sobre el Cáncer entre los Hispanos/Latinos 2012-2014*.
4. Alcaide Lucena, M., Rodríguez González, C., de Reyes Lartategui, S., Gallart Aragón, R., Sánchez Barrón, M., García Rubio, J., & Torné Poyatos, P. (2021). Molecular classification of breast cancer. Treatment and prognosis implications. *Cirugía Andaluza*, 32(2), 155–159. <https://doi.org/10.37351/2021322.9>
5. Arce, C., Bargalló, E., Villaseñor, Y., Gamboa, C., Lara, F., & Villareal, P. (2011). Cáncer de mama. In *Cancerología*. [https://doi.org/10.1016/S1134-2072\(08\)75334-9](https://doi.org/10.1016/S1134-2072(08)75334-9)
6. Barcus, C. E., O’Leary, K. A., Brockman, J. L., Rugowski, D. E., Liu, Y., Garcia, N., Yu, M., Keely, P. J., Eliceiri, K. W., & Schuler, L. A. (2017). Elevated collagen-I augments tumor progressive signals, intravasation and metastasis of prolactin-induced estrogen receptor alpha positive mammary tumor cells. *Breast Cancer Research*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s13058-017-0801-1>
7. Bernard, Valerie, Young, J., & Binart, N. (2019). Prolactin — a pleiotropic factor in health and disease 1. *Nature Reviews Endocrinology*, 15, 356–365. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0194-6>
8. Bernard, Valérie, Young, J., Chanson, P., & Binart, N. (2015). New insights in prolactin : pathological implications. *Nature Reviews Endocrinology*, 1–11. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.36>
9. Blanco-Favela, F., Legorreta-haquet, M. V., Huerta-villalobos, Y. R., Montoya-díaz, E., Chávez-sánchez, L., & Zenteno-galindo, E. (2012). Participación de la prolactina en la respuesta inmune. *Boletín Médico Hospital Infantil de México*, 69(5), 329–336.
10. Bosch, X. (2001). Early development of breast cancer in Mexican women. *The Lancet Oncology*, 2(4), 194. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(00\)00281-3](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(00)00281-3)
11. Brooks, C. L. (2012). Molecular Mechanisms of Prolactin and Its Receptor. *Endocrine Reviews*, 33(4), 504–525. <https://doi.org/10.1210/er.2011-1040>
12. Bugge, K., Papaleo, E., Haxholm, G. W., Hopper, J. T. S., Robinson, C. V., Olsen, J. G., Lindorff-larsen, K., & Kragelund, B. B. (2016). A combined computational and structural model of the full-length human prolactin receptor. *Nature Communications*, 7(11578), 1–11. <https://doi.org/10.1038/ncomms11578>
13. Cano, J. A., Cendejas, M. M., & Lopez, L. L. (1995). *Determinacion de receptores de estrogenos y progesterona en 504 muestras de carcinoma mamario*. 14(3), 63–68.
14. Cárdenas-Sánchez, J., Erazo Valle-Solís, A. A., Arce-Salinas, C., Bargalló-Rocha, J. E., Bautista-Piña, V., Cervantes-Sánchez, G., Flores-Balcázar, C. H., Lluch-Hernández, A., Maffuz-Aziz, A., Pérez-Sánchez, V. M., Poitevin-Chacón, A., Salas-González, E., Torrecillas-Torres, L., & Valero-Castillo, V. (2019). Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. Octava revisión. Colima 2019. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 18(3), 141–231.

- <https://doi.org/10.24875/j.gamo.M19000180>
15. Clarke, R. B., Anderson, E., & Howell, A. (2004). Steroid receptors in human breast cancer. *Elsevier*, 15(7), 316–323. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2004.07.004>
  16. CNEGSR. (2016). *Información estadística cáncer de mama*. <https://www.gob.mx/salud%7Ccnegsr/acciones-y-programas/informacion-estadistica-cancer-de-mama>
  17. Coates, A. S., Winer, E. P., Goldhirsch, A., Gelber, R. D., Gnant, M., Piccart-Gebhart, M. J., Thürlimann, B., Senn, H. J., André, F., Baselga, J., Bergh, J., Bonnefoi, H., Burstein, H., Cardoso, F., Castiglione-Gertsch, M., Colleoni, M., Curigliano, G., Davidson, N. E., Leo, A. Di, ... Xu, B. (2015). Tailoring therapies—improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Annals of Oncology*, 26(8), 1533–1546. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv221>
  18. Croce, C. M. (2008). Oncogenes and Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 358(5), 502–511.
  19. Devi, Y. S., & Halperin, J. (2014). Molecular and Cellular Endocrinology Reproductive actions of prolactin mediated through short and long receptor isoforms. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 382(1), 400–410. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2013.09.016>
  20. Fabiola, D., Díaz, F., Salinas, C. A., Antonio, J., Santos, M., Mayte, C., Garza, V., Lasa, F., Noverón, N. R., Medina, F. L., Miranda, A. A., & Betancourt, A. M. (2015). Carcinoma lobulillar de la mama : ¿ es una entidad clínica diferente del carcinoma ductal ? *Revista Mexicana de Mastología*, 5(1), 23–27.
  21. Faupel-badger, J. M., Duggan, M. A., Sherman, M. E., Yang, X. R., Lissowska, J., & Brinton, L. A. (2013). Prolactin Receptor Expression and Breast Cancer : Relationships with Tumor Characteristics among Pre- and Post-menopausal Women in a Population-Based Case – Control Study from Poland. *Horm Canc*. <https://doi.org/10.1007/s12672-013-0165-7>
  22. Frenk, J, Ruelas, E, Tapia, R, Castañón, R, León-May, M, González, E, Lomelín, G, Quintanilla, M. (2002). *Compendio de Anatomía patológica de la glándula mamaria*.
  23. Galsgaard, E. D., Rasmussen, B. B., Folkesson, C. G., Rasmussen, L. M., Berchtold, M. W., Christensen, L., & Panina, S. (2009). Re-evaluation of the prolactin receptor expression in human breast cancer. *Journal of Endocrinology*, 201(1), 115–128. <https://doi.org/10.1677/JOE-08-0479>
  24. Giuliano, A. E., Connolly, J. L., Edge, S. B., Mittendorf, E. A., Rugo, H. S., Solin, L. J., Weaver, D. L., Winchester, D. J., & Hortobagyi, G. N. (2017). Breast Cancer—Major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *Cancer Journal for Clinicians*, 67(4), 290–303. <https://doi.org/10.3322/caac.21393>
  25. Glasow, A., Horn, L., Taymans, S. E., Stratakis, C. A., Kelly, P. A., Kohler, U. W. E., Gillespie, J., Vonderhaar, B. K., & Bornstein, S. R. (2015). Mutational Analysis of the PRL Receptor Gene in Human Breast Tumors with Differential PRL Receptor Protein Expression. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86, 3826–3832.
  26. GLOBOCAN. (n.d.). *Global cancer data:GLOBOCAN 2018*. <https://www.uicc.org/news/global-cancer-data-globocan-2018>
  27. González, J., Ugalde, C. (2012). LA GLÁNDULA MAMARIA, EMBRIOLOGÍA, HISTOLOGÍA, ANATOMÍA Y UNA DE SUS PRINCIPALES PATOLOGÍAS, EL CÁNCER DE MAMA. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamerica LXIX*, 2(602), 317–320.

28. Gorvin, C. M. (2015). The prolactin receptor: Diverse and emerging roles in pathophysiology. In *Journal of Clinical and Translational Endocrinology* (Vol. 2, Issue 3). <https://doi.org/10.1016/j.jcte.2015.05.001>
29. Grandien, K. A. J. (1997). *The Estrogen Receptor Gene : Promoter Organization and Expression*. 29(12).
30. Hachim, I. Y., Hachim, M. Y., Lopez, V. M., Lebrun, J., & Ali, S. (2016). *Prolactin Receptor Expression is an Independent Favorable Prognostic Marker in Human Breast Cancer*. 24(4), 238–245.
31. Hachim, I. Y., Vanessa, M. L., Hachim, M. Y., Lebrun, J., & Ali, S. (2019). Concomitant Expression of Prolactin Receptor and TGF  $\beta$  Receptors in Breast Cancer : Association with Less Aggressive Phenotype and Favorable Patient Outcome. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(1640), 1–12. <https://doi.org/10.3390/ijms20071640>
32. Haxholm, G. W., Nikolajsen, L. F., Olsen, J. G., Fredsted, J., Larsen, F. H., & Goffin, V. (2015). Intrinsically disordered cytoplasmic domains of two cytokine receptors. *Biochemical Society*, 468(1), 495–506. <https://doi.org/10.1042/BJ20141243>
33. Hennighausen, L., & Robinson, G. W. (2008). Interpretation of cytokine signaling through the transcription factors STAT5A and STAT5B. In *Genes and Development* (Vol. 22, Issue 6, pp. 711–721). <https://doi.org/10.1101/gad.1643908>
34. Hironobu Minami, Yuichi Ando, Tamura Kenji, Takeshi Tajima, R. I. (2020). Phase I Study of LFA102 in Patients With Advanced Breast Cancer or Castration-resistant Prostate Cancer. *Anticancer Research*, 5235, 5229–5235. <https://doi.org/10.21873/anticancer.14526>
35. Houssami, N., MacAskill, P., Marinovich, M. L., Dixon, J. M., Irwig, L., Brennan, M. E., & Solin, L. J. (2010). Meta-analysis of the impact of surgical margins on local recurrence in women with early-stage invasive breast cancer treated with breast-conserving therapy. *European Journal of Cancer*, 46(18), 3219–3232. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.07.043>
36. Iavnilovitch, E., Groner, B., & Barash, I. (2002). Overexpression and Forced Activation of Stat5 in Mammary Gland of Transgenic Mice Promotes Cellular Proliferation , Enhances Differentiation , and Delays Postlactational Apoptosis. *Molecular Cancer Research*, 1, 32–47.
37. INEGI. (2019). *Estadísticas a propósito del día mundial de la lucha contra el cáncer de mama*. <https://www.bing.com/search?q=INEGI+2019+CANCER+DE+MAMA+edad+de+presentacion&qs=n&form=QBRE&sp=-1&pq=inegi+2019+cancer+de+mama&sc=0-25&sk=&cvid=D22071A27FB74CC086794FC8F09559D0>
38. Jacobo Velázquez, P. M., Huerta López, J. G., & Cravioto Quintana, P. (2017). Interacciones entre el cáncer y el sistema inmunológico. *Alergia Asma e Inmunología Pediátricas*, 26(2), 56–63.
39. Johnston, A. N., Bu, W., Hein, S., Garcia, S., Camacho, L., Xue, L., Qin, L., Nagi, C., Hilsenbeck, S. G., Kapali, J., Podsypanina, K., Nangia, J., & Li, Y. (2018). Hyperprolactinemia-inducing antipsychotics increase breast cancer risk by activating JAK-STAT5 in precancerous lesions. *Breast Cancer Research*, 20(42), 1–13.
40. Kavarthapu, R., Morris, C.-H. T., & Dufau, M. L. (2014). Prolactin induces up-regulation of its cognate receptor in breast cancer cells via transcriptional activation of its generic promoter by cross-talk between ER $\alpha$ ; and STAT5. *Oncotarget*, 5(19). <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2376>
41. Knaul, F. M., Nigenda, G., Lozano, R., C, M., Arreola-ornelas, H., C, M., Langer,

- A., & Frenk, J. (2009). Cáncer de mama en México : una prioridad apremiante. *Salud Pública de México*, 51(3), 335–344.
42. Kokay, I. C., Petersen, S. L., & Grattan, D. R. (2011). *Identification of Prolactin-Sensitive GABA and Kisspeptin Neurons in Regions of the Rat Hypothalamus Involved in the Control of Fertility*. 152(February), 526–535. <https://doi.org/10.1210/en.2010-0668>
  43. Kuiper, G., Carlsson, Bo., Grandien, K., Enmark, E., Nilsson, S., Gustafsson, J. (1997). Comparison of the Ligand Binding Specificity and Transcript Tissue Distribution of Estrogen Receptors. *The Endocrine Society*, 138(3), 863–870.
  44. Kumar, V., Abbas, A., Fausto, N., Aster, J. (2010). *Patología estructural y funcional* (Elsevier (ed.); 8th ed.).
  45. Locia Espinoza, J., Hernández Aguilar, M., Aranda Abreu, G., Rojas Durán, F., Manzo Denes, J., Coria Ávila, G., Yerena Aguilar, C., & Soto Cid, A. (2013). The role of estrogens and their receptors in prevention and promotion of proliferative diseases in the prostatic gland. *ENeurobiología*, 4(8), 1–24.
  46. López-Ozuna, V. M., Hac, I. Y., Hachim, M. Y., Lebrun, J., & Ali, S. (2016). Prolactin Pro-Differentiation Pathway in Triple Negative Breast Cancer : Impact on Prognosis and Potential Therapy. *Nature*, 1–13. <https://doi.org/10.1038/srep30934>
  47. Luini, A., Rososchansky, J., Gatti, G., Zurrída, S., Caldarella, P., Viale, G., Rosali Dos Santos, G., & Frasson, A. (2009). The surgical margin status after breast-conserving surgery: Discussion of an open issue. *Breast Cancer Research and Treatment*, 113(2), 397–402. <https://doi.org/10.1007/s10549-008-9929-0>
  48. Luján, J., García, F., Figueroa, G., Hernández, M., Ayala, A. (2006). Artículo original Menarquia temprana como factor de riesgo de cáncer de mama. *Ginecología y Obstetricia de México*, 74, 568–572.
  49. Moamer, A., Hachim, I. Y., Binothman, N., Wang, N., Lebrun, J., & Ali, S. (2019). A role for kinesin-1 subunits KIF5B / KLC1 in regulating epithelial mesenchymal plasticity in breast tumorigenesis. *EBioMedicine*, 45, 92–107. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.06.009>
  50. Momenimovahed, Z., & Salehiniya, H. (2019). Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. *Breast Cancer: Targets and Therapy*, 11, 151–164. <https://doi.org/10.2147/BCTT.S176070>
  51. Motamedi, B., Ra, H., & Khosravi, M. (2020). Prolactin receptor expression as a novel prognostic biomarker for triple negative breast cancer patients. *Annals of Diagnostic Pathology*, 46, 10–14. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2020.151507>
  52. Nouhi, Z., Chughtai, N., Hartley, S., Cocolakis, E., Lebrun, J., & Ali, S. (2006). Defining the Role of Prolactin as an Invasion Suppressor Hormone in Breast Cancer Cells. *Cancer Research*, 3, 1824–1833. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-2292>
  53. OMS. (2019). *Factores de riesgo y prevención del cáncer de mama*.
  54. OMS, O. (2016). *Pautas éticas internacionales para la investigación relacionada con la salud con seres humanos*.
  55. Pedraz-Cuesta, E., Fredsted, J., Jensen, H. H., Bornebusch, A., Nejsun, L. N., Kragelund, B. B., & Pedersen, S. F. (2016). *Prolactin Signaling Stimulates Invasion via Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> Exchanger NHE1 in T47D Human Breast Cancer Cells*. 30(July), 693–708. <https://doi.org/10.1210/me.2015-1299>
  56. Peng, B., Lu, B., Leygue, E., & Murphy, L. C. (2003). Putative functional characteristics of human estrogen receptor-beta isoforms. *Journal of Molecular Endocrinology*, 30, 13–29.
  57. Qazi, A. M., Hwa, C., Morris, T., & Dufau, M. L. (2006). Ligand-Independent Homo-

- and Heterodimerization of Human Prolactin Receptor Variants : Inhibitory Action of the Short Forms by Heterodimerization. *Molecular Endocrinology*, 20(8), 1912–1923. <https://doi.org/10.1210/me.2005-0291>
58. Reynoso-Noverón, N., & Torres-Domínguez, J. A. (2017). Epidemiología del cáncer en México : carga global y proyecciones 2000-2020. *Revista Latinoamericana de Medicina Conductual*, 8(1), 9–15.
  59. Riemsma, R., Forbes, C. A., Kessels, A., Lykopoulos, K., Amonkar, M. M., Rea, D. W., & Kleijnen, J. (2010). Systematic review of aromatase inhibitors in the first-line treatment for hormone sensitive advanced or metastatic breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 123(1), 9–24. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-0974-0>
  60. Rohrmann, S., Bouchardy, C., Mousavi, M., Lorez, M., & Arndt, V. (2015). Effects of age and stage on breast cancer survival in Switzerland. *Schweizer Krebsbulletin*, 2, 152–157.
  61. Rojas, K., & Stuckey, A. (2016). Breast Cancer Epidemiology and Risk Factors. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 59(4), 651–672. <https://doi.org/10.1097/GRF.0000000000000239>
  62. Secretaria de Salud. (2008). *Guía de Referencia Rápida. Prevención y diagnóstico oportuno del cáncer de mama en el primer nivel de atención*. [http://www.isssteags.gob.mx/guias\\_praticas\\_medicas/gpc/docs/SS-001-08-RR.pdf](http://www.isssteags.gob.mx/guias_praticas_medicas/gpc/docs/SS-001-08-RR.pdf)
  63. Shams, A., Binothman, N., Boudreault, J., Wang, N., Shams, F., Hamam, D., Tian, J., Moamer, A., Dai, M., Lebrun, J.-J., & Ali, S. (2021). Prolactin receptor-driven combined luminal and epithelial differentiation in breast cancer restricts plasticity, stemness, tumorigenesis and metastasis. *Oncogenesis*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41389-020-00297-5>
  64. Shemanko, C. S. (2016). Prolactin receptor in breast cancer: marker for metastatic risk. *Journal of Molecular Endocrinology*, 57(4), R153–R165. <https://doi.org/10.1530/jme-16-0150>
  65. Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2018). Cancer Statistics , 2018. *Cancer Journal for Clinicians*, 68(1), 7–30. <https://doi.org/10.3322/caac.21442>
  66. Sifuentes-Alvarez, A., Castañeda-Martínez, LY., Lugo-Nevarés, M., & R. M. (2015). Factores de riesgo del cáncer de mama en mujeres del estado de durango. *Ginecol Obstet Mex*, 83, 662–669. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.6.3508>
  67. Sparano, J. A., Gray, R. J., Makower, D. F., Pritchard, K. I., Kaklamani, V. G., Berenberg, J. L., Abrams, J., & Sledge, G. W. (2019). Clinical and Genomic Risk to Guide the Use of Adjuvant Therapy for Breast Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 380(25), 2395–2405. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1904819>
  68. SSA. (2019). *Mantiene SSM lucha contra cáncer de mama*. <https://salud.michoacan.gob.mx/mantiene-ssm-lucha-contra-cancer-de-mama/>
  69. Sunderland, M. C., & Mcguire, L. (1991). *Hormones and Breast Cancer*. 72–76.
  70. Sutherland, A., Forsyth, A., Cong, Y., Grant, L., Juan, T., Lee, J. K., Klimowicz, A., Petrillo, S. K., Hu, J., Chan, A., Boutillon, F., Goffin, V., Egan, C., Tang, P. A., Cai, L., Morris, D., Magliocco, A., & Shemanko, C. S. (2016). The Role of Prolactin in Bone Metastasis and Breast Cancer Cell – Mediated Osteoclast Differentiation. *Natl Cancer Inst*, 108, 1–11. <https://doi.org/10.1093/jnci/djv338>
  71. Swaminathan, G., Varghese, B., & Fuchs, S. Y. (2008). *Regulation of Prolactin Receptor Levels and Activity in Breast Cancer*. 81–91. <https://doi.org/10.1007/s10911-008-9068-6>
  72. Vaquero Manuel. (2007). *Manual de Calidad de Inmunohistoquímica en Anatomía Patológica*.
  73. Vega, H., Ruíz- García, E., Muñoz- González, D., Barajas- Figueroa, J.,

- Maldonado- Martínez, H., & Valero, V. (2014). Biomarcadores del cáncer de mama vs firmas genómicas: hacia la búsqueda de una terapia personalizada. *Revista Mexicana de Mastología*, 4(1), 9–17.
74. Veronesi, U., Paganelli, G., Viale, G., Path, F. R., Luini, A., Zurrada, S., Galimberti, V., & Gennari, R. (2003). A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. *The New England Journal of Medicine*, 349(6), 546–553. <https://doi.org/10.3109/14733400410001689342>
75. Volker, S. E., Hedrick, S. E., Feeney, Y. B., & Clevenger, C. V. (2018). Cyclophilin A Function in Mammary Epithelium Differentiation , and Tumorigenesis in the Mammary Gland. *Cancer Research*, 9, 3877–3888. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-2892>
76. Waks, A. G., & Winer, E. P. (2019). Breast Cancer Treatment: A Review. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 321(3), 288–300. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.19323>
77. Walker, S. R., Nelson, E. A., Zou, L., Chaudhury, M., Signoretti, S., Richardson, A., & Frank, D. A. (2009). Reciprocal Effects of STAT5 and STAT3 in Breast Cancer. *Molecular Cancer Research*, 7(6), 966–976. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.mcr-08-0238>
78. Walker, S. R., Xiang, M., & Frank, D. (2016). Distinct roles of STAT3 and STAT5 in the pathogenesis and targeted therapy of breast cancer. *Oncology Research and Treatment*, 39(3), 100–101. <https://doi.org/10.1159/000444685>