

ARTÍCULO ORIGINAL

Análisis de la coexpresión de HER2/GRB7 y su asociación con variables clinicopatológicas en un grupo de mujeres colombianas con diagnóstico de cáncer de mama invasivo

Analysis of HER2/GRB7 co-expression and its association with clinicopathological variables in a group of Colombian women diagnosed with invasive breast cancer

Lina Maria Bejarano-Rivera¹, Mayra Alejandra Ramírez-Díaz¹, Laura Rey-Vargas¹, Juan Carlos Mejía-Henao¹, Maria Carolina Sanabria-Salas¹, Silvia Juliana Serrano-Gómez¹

¹ Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, Colombia

Fecha de sometimiento: 14/06/2022

Fecha de aceptación: 07/09/2022

Disponible en internet: 30/03/2023

Citación:

Bejarano-Rivera LM, Ramírez-Díaz MA, Rey-Vargas L, Mejía-Henao JC, Sanabria-Salas MC, Serrano-Gómez SJ. Análisis de la coexpresión de HER2/GRB7 y su asociación con variables clinicopatológicas en un grupo de mujeres colombianas con diagnóstico de cáncer de mama invasivo. Rev Col Cancerol. 2023;27(1):80-90. <http://dx.doi.org/10.35509/01239015.885>

Conflictos de interés:

No existen conflictos de interés por parte de los autores del presente estudio.

Correspondencia:

Silvia Juliana Serrano-Gómez

Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, Colombia.

Correo electrónico: sserrano@cancer.gov.co

Abstract

Objective: To analyze differences in the presentation of clinicopathological variables according to GRB7 protein expression in HER2-positive tumors in Colombian patients with invasive ductal breast carcinomas diagnosed between 2013 and 2015 at the Instituto Nacional de Cancerología (Bogotá, Colombia).

Methods: A total of 158 breast cancer patients were included with a confirmed diagnosis of invasive ductal carcinoma. A single pathologist evaluated the protein expression of hormone receptors (estrogen (ER) and progesterone receptor (PR)), HER2, Ki67, and GRB7 by immunohistochemistry (IHC). The chi-square and Fisher's exact tests were used to assess differences between categorical variables, as well as the Mann-Whitney/Kruskal-Wallis U test for numerical variables. Overall (OS) and disease-free (DFS) survival were evaluated according to HER2/GRB7 co-expression using the Kaplan-Meier method and log-rank test.

Results: GRB7 expression was observed exclusively in HER2-positive tumors (luminal B/HER2+ and HER2-enriched: $p < 0.001$). HER2+/GRB7+ cases showed higher Ki67 expression (40% vs. 27.5%, $p = 0.029$) and a tendency to present a smaller tumor (30 mm vs. 51 mm, $p = 0.097$) compared to HER2+/GRB7- tumors. However, no differences in OS or DFS were observed by HER2/GRB7 co-expression (OS: $p = 0.6$; DFS: $p = 0.07$).

Conclusions: Our results in Colombian patients indicate that GRB7 expression in HER2-positive breast tumors is not associated with unfavorable clinicopathological features.

Keywords: Breast neoplasms; receptor, ErbB-2; GRB7 adaptor protein

Resumen

Objetivo. Analizar las diferencias en la presentación de variables clinicopatológicas, de acuerdo con la expresión proteica de GRB7, en tumores HER2 positivos en mujeres colombianas con cáncer de mama invasivo, diagnosticado entre los años 2013 y 2015 en el Instituto Nacional de Cancerología (INC).

Métodos. Se incluyeron 158 pacientes con diagnóstico confirmado de cáncer de mama ductal invasivo. Se evaluó la expresión de los receptores hormonales (receptor de estrógeno (RE) y de progesterona (RP)), HER2, Ki67 y GRB7,

mediante inmunohistoquímica (IHQ), y a partir de estos, se clasificaron los tumores en subtipos intrínsecos. Los análisis estadísticos incluyeron las pruebas de Chi-cuadrado/test exacto de Fisher para las variables categóricas, y la prueba U Mann Whitney/Kruskal Wallis para las variables cuantitativas. Se evaluó la supervivencia global (SG) y libre de enfermedad (SLR) según la coexpresión de HER2/GRB7 usando el método de Kaplan-Meier y el test de *log-rank*.

Resultados. La expresión de GRB7 se observó exclusivamente en tumores HER2-positivos (luminal B/HER2+ y HER2-enriquecidos: $p < 0,001$). Los casos HER2+/GRB7+ mostraron una mayor expresión de Ki67 (40,0% vs. 27,5%, $p = 0,029$), pero una tendencia a presentar un menor tamaño tumoral (30 mm vs. 51 mm, $p = 0,097$), comparado con los tumores HER2+/GRB7-. No obstante, no se observaron diferencias en la supervivencia según la coexpresión de HER2/GRB7 (SG: $p = 0,6$; SLR: $p = 0,07$).

Conclusiones. En nuestra muestra de estudio, la expresión de GRB7 en tumores HER2+ no se asoció con características clínico-patológicas de pronóstico desfavorable.

Palabras clave: neoplasias de la mama, receptor ErbB-2, proteína adaptadora GRB7

Introducción

El cáncer de mama presenta la mayor incidencia en mujeres a nivel mundial, lo que puede obedecer en parte a la implementación efectiva de pruebas de tamizaje como la mamografía (1,2) e incluso, relacionarse con cambios en el estilo de vida de las mujeres (3). Así mismo, en Colombia ocupa el primer lugar en incidencia y mortalidad por cáncer dentro de la población femenina (4,5), considerándose actualmente como un problema de salud pública en el país (5).

El cáncer de mama se caracteriza por ser altamente heterogéneo a nivel histopatológico y molecular (6). Se han descrito principalmente cuatro subtipos moleculares: luminales (luminal A y luminal B), factor 2 de crecimiento epidérmico (HER2)-enriquecidos, basales o triples negativos, y de tipo normal (*normal-like*). La importancia de esta clasificación radica en la información que brinda cada subtipo para evaluar el pronóstico y guiar el tratamiento del paciente (7-9). Actualmente, en la práctica clínica de rutina, se utilizan sustitutos de clasificación basados en pruebas de inmunohistoquímica (IHQ) donde se evalúa la expresión tumoral de los receptores hormonales (receptor de estrógeno (RE) y de progesterona (RP)), el HER2 y el marcador de proliferación celular Ki67, y se definen los subtipos intrínsecos según los lineamientos del panel de expertos de St. Gallen (10).

Se han reportado diferencias en la distribución de los subtipos de cáncer de mama entre diferentes grupos poblacionales (11,12). Se ha observado, en la población latina de Estados Unidos y Latinoamérica, una alta prevalencia de subtipos más agresivos como los HER2-positivos (luminal B/

HER2+ y HER2-enriquecido) y el triple negativo (13). Puntualmente, en Colombia se ha reportado que el subtipo más prevalente es el luminal B, a diferencia de otras poblaciones donde el más frecuente es el luminal A (14-17). Por otro lado, estudios realizados en Colombia, donde se ha evaluado la ancestría genética de las pacientes con cáncer de mama, han revelado que mujeres con tumores del subtipo luminal B y con una mayor fracción de ancestría indígena, presentan una mayor expresión del gen *ERBB2*, el cual codifica para la proteína HER2, así como de otros genes localizados en la misma región del cromosoma 17, como *GRB7* (18).

GRB7 es una proteína adaptadora, la cual se une a receptores tirosin-quinasa activados de la familia EGF (factor de crecimiento epidérmico), como HER2, mediando la transmisión de señales que activan vías de proliferación, migración y supervivencia celular (19,20). Dada la proximidad que presentan ambos genes (*HER2* y *GRB7*) en el cromosoma 17 (locus q12), la expresión de estos se encuentra altamente correlacionada, posiblemente por un evento de coamplificación, especialmente en los tumores HER2-positivos (21,22). Adicionalmente, debido a que la función biológica de estas proteínas está relacionada con la activación de vías de señalización que promueven la proliferación celular (23,24), su coamplificación en tumores de mama se ha asociado con resistencia a tratamientos y con un pronóstico menos favorable, en comparación con tumores que sobreexpresan exclusivamente HER2 (19,21,24).

Los resultados previos de nuestro grupo de investigación sugieren que las mujeres colombianas con cáncer de mama del subtipo luminal B y una alta fracción de ancestría indígena, presentan una mayor expresión de los genes *ERBB2* y *GRB7* (18).

Sin embargo, aún se desconoce si este evento en nuestra población también se podría correlacionar con la presentación de variables clínico-patológicas de pronóstico desfavorable. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue analizar las diferencias en la presentación de variables clínico-patológicas de acuerdo con la coexpresión de HER2/GRB7, en un grupo de mujeres colombianas con cáncer de mama de los subtipos luminal B y HER2-enriquecido.

Metodología

Población de estudio

Se realizó un estudio analítico retrospectivo, de corte transversal, que incluyó 158 mujeres con diagnóstico confirmado de cáncer de mama ductal invasivo entre los años 2013 y 2015, en el Instituto Nacional de Cancerología (INC) E.S.E., de los subtipos luminal B y HER2-enriquecido. Las pacientes incluidas cumplieron con los siguientes criterios: (1) diagnóstico confirmado de cáncer de mama ductal invasivo; (2) disponibilidad de bloques de tejido embebido en parafina y fijado en formalina (FFPE); (3) disponibilidad de las láminas histológicas provenientes de los productos de la cirugía (cuadrantectomía o mastectomía), y (4) presencia de al menos 10% de contenido tumoral invasivo. Este proyecto fue aprobado por el comité de ética institucional bajo el código C19010300-411, como un estudio sin riesgo, por lo que no fue necesaria la toma del consentimiento informado a los pacientes incluidos.

Inmunohistoquímica

Las láminas histológicas correspondientes a los casos que cumplieron con los criterios de inclusión fueron revisadas por el médico patólogo, quien confirmó el diagnóstico histopatológico y seleccionó el bloque de parafina con mayor contenido tumoral y menor contenido de fibrosis y necrosis.

A partir del bloque tumoral seleccionado, en el laboratorio de patología del INC, se realizaron ensayos de IHQ en secciones de 3 µm de grosor, empleando anticuerpos monoclonales para la evaluación del RE (clon SP1 Roche 112 05278406001), RP (clon 1E2 Roche 05278392001), HER2 (clon 4B5 Roche 05278368001), Ki67 (clon 30-9 Roche 05278384001) y GRB7 (A-12 sc-376069, Santa Cruz Biotechnology) usando un sistema

automatizado de preparación de portaobjetos Benchmark XT de Roche (Roche Ltd., Suiza). Se incluyeron controles positivos y se utilizó 3,3' diaminobenzidina (DAB) como cromógeno.

La expresión de los receptores hormonales (RE y RP) se consideró positiva cuando al menos el 1% de las células presentó tinción nuclear. HER2 se evaluó bajo las recomendaciones de la Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO)/Colegio Americano de Patólogos (CAP) (25). Los casos con resultado equívoco (2+) fueron excluidos del estudio, ya que no contaban con prueba confirmatoria FISH/CISH. La expresión de GRB7 se consideró positiva cuando más del 10% de las células tumorales presentó tinción a nivel de membrana celular y citoplasma. Adicionalmente, se evaluó la intensidad de marcación de GRB7 como negativa (0), débil (1+), moderada (2+), y fuerte (3+). La expresión del marcador de proliferación celular Ki67 se calculó como el porcentaje de células con tinción nuclear positiva.

De acuerdo con la expresión proteica de los receptores hormonales, Ki67 y HER2, se clasificaron los tumores en subtipos intrínsecos, teniendo en cuenta los lineamientos establecidos por el panel de expertos de St. Gallen del año 2013 (26).

Evaluación de variables clínico-patológicas

Las variables clínico-patológicas fueron obtenidas a partir de la historia clínica de las pacientes y el resultado dado por el patólogo para la evaluación de los diferentes marcadores por IHQ (RE, RP, HER2 y Ki67). Estas variables fueron evaluadas como cualitativas o cuantitativas, dependiendo el caso. La categorización de edad, tamaño tumoral y número de ganglios comprometidos se realizó teniendo en cuenta el manual de estadificación del cáncer de mama, propuesto por el Comité Conjunto Estadounidense sobre el Cáncer (AJCC), y la revisión de artículos científicos.

Análisis estadístico

Se evaluaron las diferencias en la expresión de HER2 y GRB7 según la presentación de variables clínico-patológicas, usando la prueba de independencia Chi-cuadrado de Pearson (χ^2) y la prueba exacta de Fisher para las variables categóricas. Para las variables clínico-patológicas de carácter numérico,

se evaluó la distribución de los datos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y según el comportamiento de los datos, se emplearon las pruebas no paramétricas U Mann Whitney y Kruskal Wallis, para evaluar las diferencias en su presentación entre los grupos de análisis.

Las diferencias en la supervivencia global (SG) y libre de recurrencia (SLR), de acuerdo con el estatus de coexpresión de HER2/GRB7, se analizó mediante curvas de Kaplan-Meier y el test de *log-rank*. Los valores de $p < 0,05$ fueron considerados como estadísticamente significativos. La SG se definió como el tiempo transcurrido desde el momento del diagnóstico hasta la fecha de la última evaluación clínica o la fecha de muerte por cualquier causa, de acuerdo con datos obtenidos de la Registraduría Nacional del Estado Civil de Colombia, y la SLR se calculó desde el año de la cirugía hasta el año de la primera recurrencia. El periodo de seguimiento para estos datos se realizó hasta febrero de 2020.

Todos los análisis estadísticos se realizaron en el programa SPSS versión 25 para Windows (Chicago, IL, USA) y el software R-Studio (versión 1.2.5033).

Resultados

1. Descripción de las variables clínico-patológicas

Se incluyeron 158 casos de mujeres con cáncer de mama ductal invasivo de los subtipos luminal B (n=103), luminal B/HER2+ (n=34) y HER2-enriquecido (n=21), diagnosticadas en el INC entre los años 2013 y 2015. Las diferencias en las características clínico-patológicas según el subtipo intrínseco se encuentran descritas en la [Tabla 1](#). El grupo etario predominante entre los subtipos intrínsecos fue la población mayor de 50 años. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el estadio clínico al diagnóstico, el grado de diferenciación y el tamaño tumoral al diagnóstico. Se observó un mayor porcentaje de pacientes en estadios clínicos avanzados III-IV en el subtipo HER2-enriquecido (HER2-enriquecido: 85,7% vs. luminal B/HER2+: 32,4% y luminal B: 43,7%; $p < 0,001$). Adicionalmente, se observó que los pacientes con tumores del subtipo HER2-enriquecido presentaron un mayor grado de Bloom-Richardson (BR III, HER2-enriquecido: 71,4% vs. luminal B/HER2+: 44,1% y luminal B: 33,3%, $p = 0,026$) y un mayor tamaño tumoral (49 mm vs. luminal B/HER2+: 29,5 mm y luminal B: 32,5 mm, $p = 0,043$) al diagnóstico.

Tabla 1. Diferencias en la presentación de las variables clínico-patológicas de acuerdo con el subtipo intrínseco de cáncer de mama.

Subtipos intrínsecos CM	Luminal B (n=103) Valor (%)	Luminal B/HER2+ (n=34) Valor (%)	HER2-enriquecido (n=21) Valor (%)	p valor
Edad de diagnóstico				
≤ 50 años	20 (19,4)	9 (26,5)	7 (33,3)	0,31 ^b
> 50 años	83 (80,6)	25 (73,5)	14 (66,7)	
Estadio clínico al diagnóstico				
I/II	58 (56,3)	23 (67,6)	3 (14,3)	<0,001 ^b
III/IV	45 (43,7)	11 (32,4)	18 (85,7)	
Bloom Richardson				
I	6 (5,9)	2 (5,9)	0 (0,0)	0,026 ^b
II	62 (60,8)	17 (50,0)	6 (28,6)	
III	34 (33,3)	15 (44,1)	15 (71,4)	
No hay registro*	1	0	0	
Compromiso ganglios linfáticos al diagnóstico				
Sí	65 (63,1)	17 (50)	11 (52,4)	0,327 ^a
No	38 (36,9)	17 (50)	10 (47,6)	
Tamaño del tumor al diagnóstico (mm)				
Mediana [IQR]	32,5 [20,0-50,0]	29,5 [20,0-46,2]	49,0 [30,0-58,5]	0,043 ^c

Subtipos intrínsecos CM	Luminal B (n=103) Valor (%)	Luminal B/HER2+ (n=34) Valor (%)	HER2-enriquecido (n=21) Valor (%)	p valor
Administración de neoadyuvancia				
Sí	54 (52,4)	15 (44,1)	13 (61,9)	0,432 ^a
No	49 (47,6)	19 (55,9)	8 (38,1)	
Manejo quirúrgico				
Cuadrantectomía	45 (43,7)	16 (47,1)	3 (14,3)	0,03 ^a
Mastectomía	58 (56,3)	18 (52,9)	18 (85,7)	
Recurrencia				
Sí	29 (29,6)	5 (16,1)	7 (38,9)	0,18 ^a
No	69 (70,4)	26 (83,9)	11 (61,1)	
No hay registro*	5	3	3	
Tipo de recurrencia				
Local-Regional	5 (17,2)	3 (60)	1 (14,3)	0,115 ^b
Sistémica	24 (82,8)	2 (40)	6 (85,7)	
No hay registro*	5	3	3	
No presentó recurrencia**	69	26	11	
Estado vital				
Fallecida	24 (23,5)	6 (17,6)	7 (33,3)	0,427 ^b
Viva	78 (76,5)	28 (82,4)	14 (66,7)	
No hay registro*	1	0	0	

CM: cáncer de mama; IQR: índice intercuartílico.

Pruebas estadísticas: ^a Prueba Chi-cuadrado, ^b Prueba exacta de Fisher, ^c Prueba Kruskal Wallis.

Las categorías No hay registro* y No presentó recurrencia** no se tuvieron en cuenta en los análisis estadísticos.

Respecto al manejo terapéutico, la mayoría de las mujeres con tumores del subtipo HER2-enriquecido recibieron neoadyuvancia (61,9%) y manejo quirúrgico por mastectomía (85,7%), a diferencia de las pacientes con subtipo luminal B y luminal B/HER2+, que presentaron porcentajes equiparables en el tratamiento con neoadyuvancia y en el manejo quirúrgico por mastectomía y cuadrantectomía.

Por otro lado, se observó que los tumores del subtipo HER2-enriquecido presentaron una mayor expresión de Ki67 en comparación con los otros subtipos (50,0% vs. luminal B/HER2+: 30,0% y luminal B: 20,0%, $p=0,001$). Así como se ha reportado previamente en la literatura (21,27), la expresión de GRB7 se observó exclusivamente en tumores HER2-positivos, con una prevalencia similar entre los subtipos HER2-enriquecido (66,7%) y luminal B/HER2+ (67,6%) (Tabla 2).

Tabla 2. Diferencias en la expresión de Ki67 y GRB7 según el subtipo intrínseco de cáncer de mama.

Expresión de los receptores hormonales	Luminal B (n=103) Valor (%)	Luminal B/HER2+ (n=34) Valor (%)	HER2-enriquecido (n=21) Valor (%)	p valor
Ki67 (Mediana [IQR])	20 [20-40]	30 [20- 40]	50 [30-70]	0,001 ^a
Expresión de GRB7				
Positivo	0 (0,0)	23 (67,6)	14 (66,7)	<0,001 ^b
Negativo	101 (100,0)	11 (32,4)	7 (33,3)	
No hay registro*	2	0	0	

IQR: índice intercuartílico

Prueba estadística: ^a Prueba Kruskal Wallis, ^b Prueba exacta de Fisher

La categoría No hay registro* no se tuvo en cuenta en los análisis estadísticos.

2. Diferencias clínico-patológicas según la expresión tumoral de GRB7

Teniendo en cuenta que nuestros resultados indican que la expresión de GRB7 es exclusiva de tumores HER2-positivos, pero que también hay un grupo de tumores que no expresa GRB7, se analizaron las diferencias en la presentación de variables clínico-patológicas de acuerdo con la expresión de GRB7, exclusivamente en los grupos luminal B/HER2+ y HER2-enriquecido (Tabla 3).

Se observó una mayor expresión de Ki67 en los casos con expresión positiva de GRB7 en comparación con los GRB7-negativos (40,0% vs. 27,5%, $p=0,029$). Por otra parte, se observó una tendencia en los casos GRB7-negativos a presentar con mayor frecuencia recurrencias (41,2% vs. 15,6%, $p=0,07$), y un mayor tamaño tumoral (51 mm vs. 30 mm, $p=0,097$), comparado con los casos GRB7-positivos.

Tabla 3. Diferencias en la presentación de variables clínico-patológicas según la expresión tumoral de GRB7, en tumores HER2-positivos

Expresión GRB7	GRB7 positivo (n=37) Valor (%)	GRB7 negativo (n=18) Valor (%)	p valor
Edad de diagnóstico			
≤ 50 años	11 (29,7)	5 (27,8)	0,31 ^b
> 50 años	26 (70,3)	13 (72,2)	
Estadio clínico al diagnóstico			
I/II	19 (51,4)	7 (38,9)	0,561 ^a
III/IV	18 (48,6)	11 (61,1)	
Bloom Richardson			
I	2 (5,4)	0 (0)	0,320 ^b
II	13 (35,1)	10 (55,6)	
III	22 (59,5)	8 (44,4)	
Compromiso ganglios linfáticos al diagnóstico			
Sí	19 (51,4)	8 (44,4)	0,847 ^a
No	18 (48,6)	10 (55,6)	
Tamaño del tumor al diagnóstico (mm)			
(Mediana [IQR])	30 [25- 50]	51 [30-70]	0,097 ^c
Administración de neoadyuvancia			
Sí	18 (48,6)	10 (55,6)	0,847 ^a
No	19 (51,4)	8 (44,4)	
Manejo quirúrgico			
Cuadrantectomía	15 (40,5)	4 (22,2)	0,29 ^a
Mastectomía	22 (59,5)	14 (77,8)	
Recurrencia			
Sí	5 (15,6)	7 (41,2)	0,18 ^a
No	27 (84,4)	10 (58,8)	
No hay registro	5	1	
Tipo de recurrencia			
Local-Regional	1 (9,1)	3 (42,9)	0,115 ^b
Sistémica	4 (90,9)	4 (57,1)	
No hay registro*	5	1	
No presentó recurrencia**	27	10	
Estado vital			
Fallecida	8 (21,6)	5 (27,8)	0,737 ^b
Viva	29 (78,4)	13 (72,2)	
Ki67 (Mediana [IQR])	40 [30-60]	27,5 [20,0-37,5]	0,029 ^c

GRB7: proteína adaptadora; IQR: índice intercuartílico

Pruebas estadísticas: ^a Prueba Chi-cuadrado, ^b Prueba exacta de Fisher, ^c Prueba U Mann Whitney

Para los análisis estadísticos no se tuvieron en cuenta las categorías No hay registro* y No presentó recurrencia**.

También se evaluaron las diferencias en la presentación de las variables clínico-patológicas de acuerdo con la intensidad de tinción de GRB7 (débil (1+) vs. moderada (2+) vs. fuerte (3+)) en tumores HER2-positivos; no obstante, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de análisis (datos no mostrados).

3. Supervivencia global y libre de recurrencia según la expresión de GRB7

Se evaluaron las diferencias en los tiempo de SG y SLR de acuerdo con la expresión de GRB7 en pacientes con cáncer de mama HER2-positivos (Figuras 1A-B). Este análisis no mostró diferencias estadísticamente significativas en la SG (5,9 vs. 5,6 años, $p=0,6$) ni SLR (5,3 años vs. 4,1 años, $p=0,070$) entre los grupos HER2+/GRB7+ y HER2+/GRB7-. No obstante, opuesto a lo reportado en la literatura (22,28), fue posible observar una tendencia en los tumores GRB7-positivos a presentar una media de SLR mayor que los GRB7-negativos (Figura 1B).

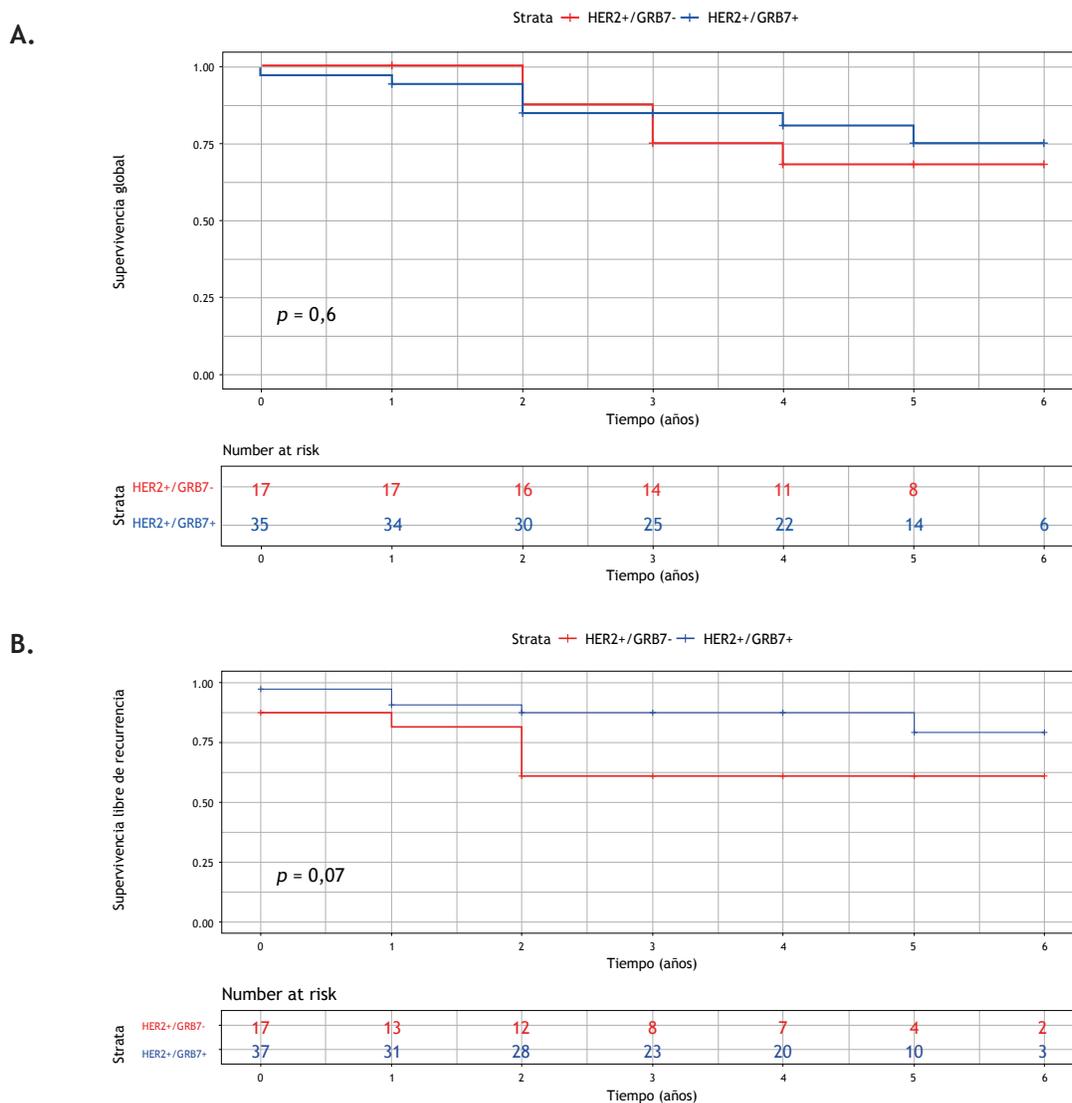


Figura 1. A. Supervivencia global (SG). B. Supervivencia libre de recurrencia (SLR) de acuerdo con la expresión de GRB7 en tumores HER2-positivos.

Discusión

Estudios previos de cáncer de mama en la población colombiana han reportado una alta prevalencia del subtipo luminal B, con porcentajes que varían entre el 30,0% y 40,0%, comparados con lo reportado en otros grupos poblacionales (16,27,29). Este subtipo, al presentar menor expresión del RP, mayor índice de proliferación celular, y en algunos casos, la amplificación del gen *ERBB2*, se asocia con un pronóstico menos favorable, comparado con el luminal A (30-36). Un comportamiento similar se ha descrito para el subtipo HER2-enriquecido (37-39). Estudios en cáncer de mama han reportado una alta correlación de la expresión de *GRB7* con la amplificación de *ERBB2*, como resultado de la proximidad genética de ambos genes en el cromosoma 17 región q12 (20,21,24). No obstante, otros estudios realizados en población femenina estadounidense y líneas celulares, también han reportado que la proteína GRB7 puede expresarse, en menor medida, de manera independiente en tumores triple negativos y luminales/HER2 negativos (40-42). La coexpresión de HER2/GRB7 en tumores de mama se ha reportado asociada con un pronóstico desfavorable de la enfermedad (22). Este evento se ha atribuido a la acción conjunta de estas proteínas en el crecimiento tumoral, y al rol regulador de GRB7 en la señalización de HER2 (20,24,43).

Teniendo esto en cuenta, el objetivo de este estudio fue evaluar las diferencias en la presentación de variables clínico-patológicas de acuerdo con la coexpresión de HER2/GRB7 en un grupo de mujeres colombianas con cáncer de mama de los subtipos luminal B y HER2-enriquecido. Nos enfocamos particularmente en estos dos subtipos teniendo en cuenta que estudios previos en nuestra población han demostrado una mayor prevalencia del subtipo luminal B (14,15), que nuestros estudios previos sugieren una expresión diferencial de *ERBB2* y *GRB7* de acuerdo con la ancestría genética (18) y que además se ha observado una mayor prevalencia de los tumores HER2-positivos en mujeres latinas (13,44). Adicionalmente, los resultados de nuestro estudio muestran que la expresión de GRB7 es exclusiva de tumores HER2-positivos, razón por la cual se llevó a cabo el análisis de la expresión de GRB7, y su asociación con la presentación de variables clínico-patológicas, exclusivamente en estos subtipos.

Nuestros resultados mostraron una mayor expresión del índice de proliferación celular Ki67 en tumores GRB7-positivos. Esto se relaciona con el papel

biológico de GRB7, el cual interactúa con HER2 a través de su dominio SH2, para la activación de vías de señalización involucradas en procesos de tumorigénesis como, por ejemplo, las vías HER2-Akt-mTOR y HER2/GRB7/RAS (19,20,24,43). Por las implicaciones que tiene la activación de estas vías de señalización en la tasa de crecimiento del tumor, una mayor expresión de Ki67 se considera un marcador de relevancia clínica (26,42). Diferentes estudios en cáncer de mama (28), y en otros modelos como cáncer de cérvix (45), han reportado un mayor tamaño tumoral en casos con expresión positiva de GRB7. No obstante, nuestros resultados mostraron la tendencia contraria. Aunque no fue estadísticamente significativo, los casos GRB7-negativos presentaron una media de tamaño tumoral mayor, comparado con los casos GRB7-positivos. Un estudio reciente evaluó el papel de GRB7 mediante ensayos de inhibición de su actividad en líneas celulares de cáncer de mama triple negativo y HER2-positivo, y reportaron que esta proteína interviene principalmente en procesos de supervivencia e inhibición de apoptosis, más que en procesos de proliferación celular (40,41), lo cual puede explicar en parte los resultados obtenidos en nuestro estudio.

Con respecto al impacto de la coexpresión de HER2/GRB7 en el desenlace, para cáncer de mama se han reportado menores tiempos de supervivencia global y supervivencia libre de recurrencia en casos con la coexpresión de HER2/GRB7, comparados con los pacientes con expresión exclusiva de HER2 o de HER2 y un bajo nivel de expresión de GRB7 (22,28). En este caso, nuestros resultados no mostraron diferencias estadísticamente significativas en los desenlaces evaluados en tumores HER2-positivos, de acuerdo con la expresión de GRB7. Sin embargo, aunque no fue estadísticamente significativo, se observaron mayores tiempos de SLR en los casos GRB7-positivos, comparados con los negativos. Es posible que este evento se relacione con la mayor sensibilidad que tienen los tumores HER2+/GRB7+, con alta capacidad proliferativa, y al efecto de los agentes quimioterapéuticos (34,46-48). Adicionalmente, el uso de terapias blanco-dirigidas al HER2 con anticuerpos monoclonales, ha mejorado de forma significativa la supervivencia de los pacientes con tumores HER2-positivos (49,50), lo que podría explicar en parte nuestros resultados, ya que no observamos diferencias en la supervivencia entre los grupos evaluados. Por lo tanto, aún es necesario realizar estudios que determinen si las diferencias en los desenlaces en tumores HER2-positivos según

la expresión de GRB7 puede relacionarse con la administración del tratamiento adyuvante.

Finalmente, en el análisis de comparación de las variables clínico-patológicas según la intensidad de tinción de GRB7, no se observaron diferencias estadísticamente significativas. Estudios que han comparado la factibilidad de determinar el porcentaje de positividad vs. la intensidad de tinción para diferentes marcadores de IHQ, como por ejemplo p53, EGFR, APC, y β -catenina, han mostrado una baja reproducibilidad en la evaluación de la intensidad de la tinción entre patólogos (51), lo que sugiere que esta medida de expresión proteica debería ser reevaluada en caso de que quisiera usarse como una medida que se correlacione con el pronóstico de la enfermedad.

Este trabajo es el primero en evaluar las diferencias en la presentación de variables clínico-patológicas según a la coexpresión de HER2/GRB7 en mujeres colombianas con cáncer de mama. Aún así, se reconoce la presencia de algunas limitantes, principalmente relacionadas con el tamaño de la muestra (n=158). Debido a la baja representación de tumores HER2-positivos en este estudio, es posible que los grupos de coexpresión de HER2/GRB7 no alcanzaran a brindar el suficiente poder estadístico para encontrar las asociaciones reportadas en otros estudios. Por otro lado, los análisis realizados no fueron controlados por covariables como el tratamiento; es por esto que aún se requieren estudios futuros que puedan dar solución a estas limitantes.

Conclusión

Los resultados reportados en nuestro estudio sugieren que los tumores de mama que coexpresan HER2/GRB7 presentan mayores índices de proliferación celular. No obstante, nuestros resultados no mostraron diferencias en el desenlace de la enfermedad según la coexpresión de estos marcadores en pacientes colombianas con cáncer de mama.

Consideraciones éticas

La realización de este trabajo siguió las recomendaciones para investigar con seres humanos, promulgadas en la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia, y por consideración del Comité de Ética en Investigaciones del INC, este estudio se consideró sin riesgo, por lo que no se requirió la aplicación de consentimiento informado.

Fuentes de financiación

Este proyecto (C19010300-411) fue financiado por el Instituto Nacional de Cancerología, con recursos de inversión-nación, convocatoria 217 de 2017.

Referencias

- Ban KA, Godellas CV. Epidemiology of breast cancer. *Surg Oncol Clin N Am*. 2014;23(3):409-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soc.2014.03.011>
- Di Sibio A, Abriata G, Forman D, Sierra MS. Female breast cancer in Central and South America. *Cancer Epidemiol*. 2016;44:S110-20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canep.2016.08.010>
- Lei S, Zheng R, Zhang S, Chen R, Wang S, Sun K, *et al*. Breast cancer incidence and mortality in women in China: temporal trends and projections to 2030. *Cancer Biol Med*. 2021;18(3):900-9. <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2020.0523>
- Barbieri RL. Chapter 10 - Breast. Strauss JF, Barbieri RL, Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology (Eighth Edition). Elsevier. 2019;248-255.e3. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47912-7.00010-X>
- Pardo C, de Vries E, Buitrago L, Gamboa Ó. Atlas de mortalidad por cáncer en Colombia. Cuarta edición. Bogotá D. C. Instituto Nacional de Cancerología, 2017, v.1. p. 124. Disponible en: https://www.cancer.gov.co/recursos_usuario/files/libros/archivos/ATLAS_de_Mortalidad_por_cancer_en_Colombia.pdf
- Turashvili G, Brogi E. Tumor heterogeneity in breast cancer. *Front Med*. 2017;4:1-11. <https://doi.org/10.3389/fmed.2017.00227>
- Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, *et al*. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406(6797):747-52. <https://doi.org/10.1038/35021093>
- Howlader N, Cronin KA, Kurian AW, Andridge R. Differences in breast cancer survival by molecular subtypes in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2018;27(6):619-26. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-17-0627>
- Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, *et al*. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *PNAS*. 2001;98(19): 10869 -74. <https://doi.org/10.1073/pnas.191367098>
- Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ. Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: Highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2011. *Ann Oncol*. 2011;22(8):1736-47. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdr304>
- DeSantis CE, Fedewa SA, Goding Sauer A, Kramer JL, Smith RA, Jemal A. Breast cancer statistics, 2015: Convergence of incidence rates between black and white women. *CA Cancer J Clin*. 2016;66(1):31-42. <https://doi.org/10.3322/caac.21320>
- Troester MA, Sun X, Allott EH, Geradts J, Cohen SM, Tse CK, *et al*. Racial differences in PAM50 subtypes in the Carolina Breast Cancer Study. *J Natl Cancer Inst*. 2018;110(2):1-7. <https://doi.org/10.1093/jnci/djx135>
- Hines LM, Risendal B, Byers T, Mengshol S, Lowery J, Singh M. Ethnic disparities in breast tumor phenotypic subtypes in hispanic and non-hispanic white women. *J Women's Heal*. 2011;20(10):1543-50. <https://doi.org/10.1089/jwh.2010.2558>

14. Gómez R, Ossa CA, Montoya ME, Echeverri C, Ángel G, Ascuntar J, *et al.* Impact of immunohistochemistry-based molecular subtype on chemosensitivity and survival in Hispanic breast cancer patients following neoadjuvant chemotherapy. *E Cancer Med Sci*. 2015;9:562. <https://doi.org/10.3332/ecancer.2015.562>
15. Serrano-Gomez SJ, Sanabria-Salas MC, Hernández-Suarez G, García O, Silva C, Romero A, *et al.* High prevalence of luminal B breast cancer intrinsic subtype in Colombian women. *Carcinogenesis*. 2016;37(7):669-76. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgw043>
16. Pinto JA, Saravia CH, Flores C, Araujo JM, Martínez D, Schwarz LJ, *et al.* Precision medicine for locally advanced breast cancer: Frontiers and challenges in Latin America. *E Cancer Med Sci*. 2019;13:896. <https://doi.org/10.3332/ecancer.2019.896>
17. Pérez-Rodríguez G, Aranda-Moreno C, Olivares-Corichi IM, García-Sánchez JR. The association of subtypes of breast cancer with tumour characteristics and reproductive factors in 1326 Mexican women. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2015;19(6):462-6. <https://doi.org/10.5114/wo.2015.56652>
18. Serrano-Gómez SJ, Sanabria-Salas MC, Garay J, Baddoo MC, Hernández-Suarez G, Mejía JC, *et al.* Ancestry as a potential modifier of gene expression in breast tumors from Colombian women. *PLoS One*. 2017;12(8):e0183179. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183179>
19. Nencioni A, Cea M, Garuti A, Passalacqua M, Raffaghello L, Soncini D, *et al.* Grb7 upregulation is a molecular adaptation to HER2 signaling inhibition due to removal of Akt-mediated gene repression. *PLoS One*. 2010;5(2):1-10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009024>
20. Pradip D, Bouzyk M, Dey N, Leyland-Jones B. Dissecting GRB7-mediated signals for proliferation and migration in HER2 overexpressing breast tumor cells: GTP-ase rules. *Am J Cancer Res*. 2013;3(2):173-95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23593540> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3623837>
21. Bivin WW, Yergiyev O, Bunker ML, Silverman JF, Krishnamurti U. GRB7 expression and correlation with HER2 amplification in invasive breast carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2017;25(8):553-8. <https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000349>
22. Nadler Y, González AM, Camp RL, Rimm DL, Kluger HM, Kluger Y. Growth factor receptor-bound protein-7 (Grb7) as a prognostic marker and therapeutic target in breast cancer. *Ann Oncol*. 2009;21(3):466-73. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdp346>
23. McCann KE, Slamon DJ. Chapter 1 - The molecular biology of HER2 and HER2-Targeted therapies. In: Hurvitz S, McCann K. *HER2-Positive breast cancer*. Elsevier. 2019. p. 1-11. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-58122-6.00001-5>
24. Luoh SW, Wagoner W, Wang X, Hu Z, Lai X, Chin K, *et al.* GRB7 dependent proliferation of basal-like, HER-2 positive human breast cancer cell lines is mediated in part by HER-1 signaling. *Mol Carcinog*. 2019;58(5):699-707. <https://doi.org/10.1002/mc.22963>
25. Wolff AC, Elizabeth Hale Hammond M, Allison KH, Harvey BE, Mangu PB, Bartlett JMS, *et al.* Human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/ College of American Pathologists Clinical Practice Guideline focused update. *J Clin Oncol*. 2018;36(20):2105-22. <https://doi.org/10.1200/JCO.2018.77.8738>
26. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, *et al.* Personalizing the treatment of women with early breast cancer: Highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol*. 2013;24(9):2206-23. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt303>
27. Vallejos CS, Gómez HL, Cruz WR, Pinto JA, Dyer RR, Velarde R, *et al.* Breast cancer classification according to immunohistochemistry markers: Subtypes and association with clinicopathologic variables in a Peruvian hospital database. *Clin Breast Cancer*. 2010;10(4):294-300. <http://dx.doi.org/10.3816/CBC.2010.n.038>
28. Ramsey B, Bai T, Hanlon Newell A, Troxell M, Park B, Olson S, *et al.* GRB7 protein over-expression and clinical outcome in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2011;127(3):659-69. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-1010-0>
29. Simon SD, Bines J, Werutsky G, Nunes JS, Pacheco FC, Segalla JG, *et al.* Characteristics and prognosis of stage I-III breast cancer subtypes in Brazil: The AMAZONA retrospective cohort study. *Breast*. 2019;44:113-9. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2019.01.008>
30. Kim J, Lee Y, Yoo T, Kim J, Hyun J, Park I, *et al.* Organ-specific recurrence or metastatic pattern of breast cancer according to biological subtypes and clinical characteristics. *J Breast Dis*. 2019;7(1):30-7. <https://doi.org/10.14449/jbd.2019.7.1.30>
31. Prat A, Pineda E, Adamo B, Galván P, Fernández A, Gaba L, *et al.* Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer. *Breast*. 2015;24(Suppl 2):S26-35. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2015.07.008>
32. Blows FM, Driver KE, Schmidt MK, Broeks A, van Leeuwen FE, Wesseling J, *et al.* Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: A collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *PLoS Med*. 2010;7(5):e1000279. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000279>
33. Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, *et al.* Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101(10):736-50. <https://doi.org/10.1093/jnci/djp082>
34. Choi N, Lee SW, Lim Y, Kang E, Kim EK, Kim YJ, *et al.* Failure patterns between HER2-Negative and HER2-Positive luminal B breast cancer. *Ann Breast Cancer*. 2019;2(1):1-6. Available from: <https://meddocsonline.org/annals-of-breast-cancer/failure-patterns-between-her2-negative-and-her2-positive-luminal-B-breast-cancer.pdf>
35. Ding NH, Liu CF, Hu C, Yuan JQ, Liao WH, Xiao Z. Prognostic factors for luminal B-like breast cancer. *Curr Med Sci*. 2019;39(3):396-402. <https://doi.org/10.1007/s11596-019-2049-8>
36. Hashmi AA, Aijaz S, Khan SM, Mahboob R, Irfan M, Zafar NI, *et al.* Prognostic parameters of luminal A and luminal B intrinsic breast cancer subtypes of Pakistani patients. *World J Surg Oncol*. 2018;16(1):1-6. <https://doi.org/10.1186/s12957-017-1299-9>
37. Park S, Koo JS, Kim MS, Park HS, Lee JS, Lee JS, *et al.* Characteristics and outcomes according to molecular subtypes of breast cancer as classified by a panel of four biomarkers using immunohistochemistry. *Breast*. 2012;21(1):50-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.breast.2011.07.008>
38. Li J, Chen Z, Su K, Zeng J. Clinicopathological classification and traditional prognostic indicators of breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(7):8500-5. PMID: [26339424](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26339424/)
39. Gonzalez-Angulo AM, Litton JK, Broglio KR, Meric-Bernstam F, Rakhit R, Cardoso F, *et al.* High risk of recurrence for patients with breast cancer who have human epidermal growth factor receptor 2-positive, node-negative tumors 1 cm or smaller. *J Clin Oncol*. 2009;27(34):5700-6. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.23.2025>
40. Giricz O, Calvo V, Pero SC, Krag DN, Sparano JA, Kenny PA. GRB7 is required for triple-negative breast cancer cell invasion and survival. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;133(2):607-15. <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1822-6>

41. Lim RCC, Price JT, Wilce JA. Context-dependent role of Grb7 in HER2+ve and triple-negative breast cancer cell lines. *Breast Cancer Res Treat.* 2014;143(3):593-603. <https://doi.org/10.1007/s10549-014-2838-5>
42. Sparano JA, Goldstein LJ, Childs BH, Shak S, Brassard D, Badve S, *et al.* Relationship between quantitative GRB7 RNA expression and recurrence after adjuvant anthracycline chemotherapy in triple-negative breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2011;17(22):7194-203. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-3357>
43. Bai T, Luoh SW. GRB-7 facilitates HER-2/Neu-mediated signal transduction and tumor formation. *Carcinogenesis.* 2008;29(3):473-9. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgm221>
44. Howlader N, Altekruse SF, Li CI, Chen VW, Clarke CA, Ries LAG, *et al.* US incidence of breast cancer subtypes defined by joint hormone receptor and HER2 status. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(5): dju055. <https://doi.org/10.1093/jnci/dju055>
45. Zhao HB, Zhang XF, Jia XL, Wang H Bin. Grb7 is over-expressed in cervical cancer and facilitate invasion and inhibit apoptosis in cervical cancer cells. *Pathol Res Pract.* 2017;213(9):1180-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prp.2017.05.013>
46. Petit T, Wilt M, Velten M, Millon R, Rodier JF, Borel C, *et al.* Comparative value of tumour grade, hormonal receptors, Ki-67, HER-2 and topoisomerase II alpha status as predictive markers in breast cancer patients treated with neoadjuvant anthracycline-based chemotherapy. *Eur J Cancer.* 2004;40(2):205-11. [https://doi.org/10.1016/S0959-8049\(03\)00675-0](https://doi.org/10.1016/S0959-8049(03)00675-0)
47. Tao M, Chen S, Zhang X, Zhou Q. Ki-67 labeling index is a predictive marker for a pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(51):e9384. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000009384>
48. Li X, Krishnamurti U, Bhattarai S, Klimov S, Reid MD, O'Regan R, *et al.* Biomarkers Predicting pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Am J Clin Pathol.* 2016;145(6):871-8. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqw045>
49. Mendes D, Alves C, Afonso N, Cardoso F, Passos-Coelho JL, Costa L, *et al.* The benefit of HER2-targeted therapies on overall survival of patients with metastatic HER2-positive breast cancer - a systematic review. *Breast Cancer Res.* 2015;17(140):1-14. <http://dx.doi.org/10.1186/s13058-015-0648-2>
50. Rinnerthaler G, Gampenrieder SP, Greil R. HER2 directed antibody-drug-conjugates beyond T-DM1 in breast cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20,1115:1-17. <https://doi.org/10.3390/ijms20051115>
51. Zlobec I, Terracciano L, Jass JR, Lugli A. Value of staining intensity in the interpretation of immunohistochemistry for tumor markers in colorectal cancer. *Virchows Arch.* 2007;451:763-9. <https://doi.org/10.1007/s00428-007-0466-8>