

REVISIÓN

Cánceres de mama hormonoindependientes: importancia de los factores de crecimiento

A. Ruibal

Servicio de Medicina Nuclear. Hospital Clínico Universitario. Facultad de Medicina. Santiago de Compostela

INTRODUCCIÓN

En los últimos veinte años se está constatando un incremento en el número de tumores mamarios, siendo mayor en los *in situ* (7 veces) que en los invasivos (40%). Sin embargo, lo que llama la atención es que este aumento se realiza a expensas de los tumores hormonodependientes y se manifiesta en todas las décadas entre los 40 y 70 años (1,2). Paralelamente a lo anterior, también se está evidenciando un mayor número de tumores receptor de estrógenos (RE) positivos y de progesterona (RP) negativos, siendo, una de las posibles explicaciones, la pérdida con la edad de la función de la Sp1, con capacidad de unión al DNA y esencial para la expresión del receptor de progesterona inducida por el de estrógenos, así como al aumento de ciertos factores relacionados con el estrés oxidativo (3).

Los tumores hormonoindependientes (RE negativos) no han aumentado de frecuencia y suelen representar el 20-40% de todos los carcinomas mamarios. Se manifiestan en mujeres jóvenes (28 vs. 69%) y constituyen un grupo muy heterogéneo desde el punto de vista morfológico. A pesar de que siempre se han asociado con una mayor agresividad, un 43% no muestran afectación ganglionar axilar, siendo el tamaño el principal factor indicador de diseminación regional (4); también ciertos tipos histológicos (secretorios) son hormonoindependientes y se asocian con un mejor pronóstico.

La hormonoindependencia puede surgir a lo largo de la evolución de los tumores receptores esteroideos positivos y, así, se ha visto que la activación de ciertas enzimas re-

lacionadas con la transducción de la señal celular como la MAPK (quinasa activada por mitógenos) conlleva la pérdida de la expresión de la isoforma alfa del receptor de estrógenos y consecuentemente la aparición de un fenotipo hormonoindependiente (5). El mismo efecto lo puede realizar la hipoxia tumoral intermitente merced, posiblemente, a un aumento de la actividad proteasoma (6). A este respecto, debemos recordar que el proteasoma es un complejo proteinasa multicatalítico localizado en el núcleo y citoplasma, y que en las células eucariotas la mayor parte de la degradación proteica se realiza a través de la vía ubiquitina-proteasoma. Esta es esencial, no sólo con las proteínas dañadas, sino también con otras reguladoras de muchas funciones celulares, entre las que destaca la mediada por los receptores.

Pero independientemente de lo anteriormente descrito, la hormonoindependencia puede representar en sí mismo un fenómeno muy inicial en la historia de un tumor y reflejar una nueva vía fisiopatológica (4), apoyada con la nueva clasificación de los tumores mamarios (fenotipo basal). Lo que está claro es que la pérdida de la hormonodependencia está ligada a la progresión de los tumores mamarios (7) y que determina una potenciación de las vías bioquímicas mediadas por factores de crecimiento, todo lo cual conlleva la expresión de ciertos parámetros celulares reflejo de un fenotipo más agresivo y hormonoresistente (8). Así, estudios *in vitro* han evidenciado una mayor expresión del receptor del factor de crecimiento epidérmico tipo 2 (EGFR2), la activación de la vía bioquímica mediada por la Akt, merced a su fosforilación en ciertos aminoácidos (Ser437 y Tre308), así como una mayor capacidad invasiva y metastásica.

Parecen existir ciertos factores que facilitan la hormonoindependencia tumoral, destacando los étnicos, raciales (bajo nivel económico y educacional), el hábito fumador (activos y ex fumadores; RR: 2,21 y 2,67 respectivamente) y las dietas ricas en hidratos de carbono. Otras posibles causas son alteraciones en los recepto-

Recibido: 01-12-06.

Aceptado: 02-02-07.

Correspondencia: Alvaro Ruibal. Servicio de Medicina Nuclear. Hospital Clínico Universitario. 15706 Santiago de Compostela. e-mail: alvaro.ruibal.morell@sergas.es

res esteroideos (mutaciones, variantes, activación independiente de los ligandos), la expresión alterada de los genes diana, modificaciones farmacológicas, cambios epigenéticos y determinados genotipos de algunas transferasas (9). Recientemente se ha sugerido que el uso adyuvante de trastuzumab en mujeres con cáncer de mama de alto riesgo podría prevenir el desarrollo de tumores contralaterales RE negativos (10) y también se ha visto que ciertos polimorfismos en el receptor del factor de crecimiento del endotelio vascular (KDR) y de su regulador la periostina, pueden determinar tumores RE- (11). Además, ciertos tumores RE- RP- erbB2+ se transforman en RE+ tras trastuzumab, evidenciando que la hormono independencia puede ser reversible (12). También puede ocurrir lo contrario. Así, el uso del tamoxifeno influye en la historia de los tumores RE+ y RE-, reduciendo, cuando se aplica como profiláctico, el riesgo de tumores mamarios de ambos tipos (RE+ y RE-). Sin embargo, un 20% de los tumores RE+ pasan a RE-; es decir, aquel fármaco promueve la evolución de lesiones precursoras que hubieran sido hormonodependientes sin dicha terapia (13).

DIFICULTADES PARA CLASIFICAR ADECUADAMENTE EL CARÁCTER HORMONAL DE UN CÁNCER DE MAMA

Hasta hace pocos años la única manera de determinar las concentraciones tisulares de RE y RP eran los ensayos de radioligando (RLG) con isótopos radiactivos. Posteriormente, surgieron las técnicas inmunohistoquímicas que poco a poco han copado el uso clínico rutinario, mostrando, según algunos grupos, un valor predictivo superior al método bioquímico. La comparación de ambas metodologías ha demostrado resultados bastante similares, si bien existen algunas discordancias en cuanto a los resultados obtenidos. Podemos decir que la principal ventaja de las técnicas inmunohistoquímicas es que localizan exactamente el carácter hormonal celular, pero su cuantificación está íntimamente ligada al anticuerpo utilizado, la susceptibilidad del facultativo y la fiabilidad de las escalas de valoración. En relación con las técnicas isotópicas merece destacarse que el nivel de proteína es vital para no dar falsos negativos y que concentraciones moderadas de receptor de estrógeno y progesterona pueden ser negativas tras el análisis histoquímica (14). Asimismo, facilitan una cuantificación fácilmente comparable.

TUMORES HORMONOINDEPENDIENTES

En general, se acepta que los tumores mamarios son hormonoindependientes cuando los RE son negativos, independientemente de cómo sea la expresión de los RP, aunque como luego veremos pueden existir, en ocasiones, ciertas diferencias de interés clínico.

Independiente del método de estudio de los RE, los carcinomas infiltrantes mamarios RE- muestran una relación inversa con la edad, se caracterizan por presentar frecuentemente un grado histológico III (94%) un tamaño superior a 2 cm (53%), afectación ganglionar axilar (49%), afectación ganglionar > 4 (16%), invasión vascular (36%), un índice Nottingham medio > 5, ser generalmente ductales (75%) o medulares atípicos (8%) y cursar con mayor expresión de p53 (60%), erbB2/neu (32%), receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR; 41%), caderina E (89%), citoqueratina 18 (69%), citoqueratinas 5-6 (45%), actina (26%), proteína 15 del líquido de quiste mamario (GCDFP 15; 19%), receptor de andrógenos (RA; 24%) y vimentina (15,16), lo que apoya en teoría un peor comportamiento y evolución. Asimismo, suelen cursar con una alta expresión de factores bioquímico-moleculares que pueden incidir directamente sobre su agresividad, hormono-resistencia, diferenciación celular, capacidad proliferativa y metastática, resistencia a la apoptosis, respuesta a la quimioterapia, capacidad angiogénica, potenciación de la actividad de proteasas y motilidad (17). Sin embargo, se ha visto que su peor supervivencia ocurre sólo en los primeros cinco años de seguimiento, para posteriormente perderse (18). En la actualidad, se concede un gran valor pronóstico a la negatividad esteroidea tanto en el tumor primitivo como en las metástasis. Merece destacarse que la negatividad para la isoforma alfa del receptor de estrógenos se asocia a un aumento en la expresión de ciertas quinasas (JAK) que intervienen en los mecanismos de transducción de la señal celular mediados por citocinas y factores de crecimiento, necesarios para la génesis y progresión de los tumores. Tras la quimioterapia neo-adyuvante estos tumores logran con mayor frecuencia una remisión completa patológica, lo que influye directamente en la supervivencia, hecho que paradójicamente no se aprecia en los casos RE+ (19). En los carcinomas mamarios *in situ*, la negatividad para el RE se asocia con un mayor grado nuclear, negatividad para los receptores de progesterona, positividad para erbB2 y p53 (20) y es un factor pronóstico de recidiva ipsilareal tras la terapia (21).

Los tumores RE- y RP- representan el 28% del total y parecen estar relacionados con la ingesta prolongada de aspirina. En ellos, la determinación citosólica de cathepsina D permite definir los casos con un mayor riesgo de afectación ganglionar axilar y la de pS2 refleja un subgrupo con una menor proliferación celular (22,23).

Como marcador de los tumores hormonoindependientes, se ha considerado a la psoriasina (S100A7), proteína reguladora del calcio y del crecimiento celular, regulada negativamente por el gen bcl-2 y con interés en ciertos procesos cutáneos inflamatorios. Su expresión aumenta notablemente en los carcinomas *in situ* e invasivos, se correlaciona con la angiogénesis y se asocia con un peor comportamiento y evolución.

ASPECTOS BIOLÓGICOS DE INTERÉS: NUEVOS CONCEPTOS

Los estudios con múltiples genes han demostrado que los carcinomas mamarios pueden ser clasificados en tres grandes tipos: luminal, basal y erbB2, con un distinto pronóstico y respuesta a la terapia (24). Focalizaremos nuestro interés en los subtipos basal y RE- erbB2+.

Los tumores con fenotipo basal se caracterizan por mostrar una negatividad para los receptores de estrógenos, de progesterona y el gen erbB2 (triple negatividad), positividad para las citoqueratinas basales 5, 6 y 17, así como para el EGFR y/o c-kit y ser pobremente diferenciados. Se ha constatado un precursor *in situ* que representa el 6% de los mismos. Merece destacarse su relación con la baja expresión del gen BRCA1 de la susceptibilidad hereditaria y su mal pronóstico, siendo tributarios de quimioterapia exclusivamente, pero mostrando una mayor respuesta a las antraciclinas y/o taxanos. Su relación con el gen BRCA1 permite sospechar la existencia de posibles nuevas estrategias terapéuticas.

El subtipo RE- erbB2+ se caracteriza por mostrar sobreexpresión de ciertos genes relacionados con el erbB2 (GRB7), mutaciones de p53 (40-80%), gran capacidad invasiva regional (2 veces superior a la de los tumores luminales) y asociarse con un mal pronóstico. No se relacionan con la edad, raza y otros factores de riesgo conocidos. Son sensibles a las antraciclinas y taxanos y cursan con mayor número de respuestas patológicas completas que los tumores luminales (46 vs. 7%). Su agresividad se manifiesta por las recidivas locales precoces, tributarias de una intensificación de la terapia. Pueden ser tratados con anticuerpos monoclonales y en la actualidad se están estudiando nuevas estrategias terapéuticas relacionadas con los genes PTEN y CXCR4. Recientemente, también se ha descrito un fenotipo tumoral que define la capacidad de metastatizar en el sistema nervioso central.

Conviene recordar que el carcinoma escamoso de la mama, muy raro, agresivo y con un tiempo de supervivencia libre de enfermedad de 20 meses, una supervivencia media de 37 meses y una global a los 5 años del 40%, es un tumor basal: RE-, RP- y erbB2-, cursando muy frecuentemente con sobreexpresión del EGFR (25).

Ya hemos hecho referencia anteriormente a la expresión del receptor de andrógenos (RA) en los carcinomas hormono dependientes. Al respecto, merece destacarse que aquella es menor en relación a los tumores RE+ (49 vs. 89%) y que la positividad se asocia con una mayor supervivencia libre de enfermedad y global. También en los casos RE-/RA+, la dehidroepiandrosterona sulfato inhibe la proliferación celular, mientras que la estimula en los tumores RE+/RA+.

IMPORTANCIA DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO

La hormono independencia se asocia a la activación de

vías bioquímicas vehiculizadas a través de factores de crecimiento. Entre ellos, merecen destacarse los siguientes:

EGFR

La mayor expresión del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) en los carcinomas RE- (26) ha aumentado su interés clínico, no sólo por el teórico uso potencial de inhibidores del EGFR para la quimioprevención, sino también porque los tumores RE- y EGFR+ presentan un menor intervalo libre de enfermedad y supervivencia global, tanto si están afectados o no los ganglios de la axila. Además, la combinación de ambos receptores se comporta como un factor pronóstico independiente. Este receptor también se asocia a carcinomas *in situ* de alto grado y diferenciación mioepitelial (27). En nuestra experiencia, la positividad para el EGFR en los carcinomas RE- y RP- definió una alta proliferación, un porcentaje superior de metástasis a distancia y recidivas más frecuentes. Un aspecto biológico de interés es la modificación de la concentración de este receptor en las metástasis frente al tumor primitivo, fenómeno que ocurre también con los otros miembros de la familia de este receptor.

Recientemente, se ha podido conocer que la degradación de este receptor se asocia con la inactivación de cdc42 (28), GTPasa de la subfamilia Rho que controla diferentes vías celulares relacionadas con la morfología, migración endocitosis y progresión del ciclo celular y que existe una interrelación funcional entre el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el estradiol, jugando un papel muy importante el factor de transcripción STAT5 (30), que se activa en respuesta a citocinas (IL2, IL3, IL7, GM-CSF, eritropoyetina, trombopoyetrina) y ciertos factores de crecimiento. En algunos tumores como los mielomas y los linfomas es vital para la transformación celular. La demostración de la existencia de 520 genes diferentemente expresados entre los tumores RE alfa-positivos y RE alfa-negativos, siendo 47 de ellos hipoexpresados (29), abre la posibilidad de poder conocer cómo influye la presencia del subtipo de receptor en el comportamiento ulterior de la neoplasia. También merece destacarse su papel en la radiosensibilidad celular de muchos carcinomas (30).

ERBB2

Independientemente de una serie de aspectos clínico-terapéuticos conocidos que posee este oncogén, queremos destacar aquí que su sobreexpresión determina que los tumores mamarios sinteticen mayor cantidad del factor 1 inducido por la hipoxia (HIF-1 alfa) y asociado a recidivas precoces y metástasis a distancia, así como de la integrina alfa 5, que aumenta la adhesividad a la fibro-

nectina y facilita la supervivencia celular en condiciones adversas. También este gen conlleva un aumento en la expresión del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), merced a un aumento de la Akt fosforilada p70S6K y de mTOR fosforilado. Este hecho potencia la interrelación de muchas proteasas como el activador del plasminógeno tipo uroquinasa (u-AP), su receptor, la catepsina D y otras metaloproteasas (31). Asimismo, conocemos su interrelación, en ciertas situaciones, con determinadas proteínas del citoesqueleto (32) y con la vía de la Akt (33) a la que luego haremos referencia. En los carcinomas *in situ*, la positividad para el oncogén erbB2 se correlaciona con altas concentraciones de c-src, tirosinquinasa asociada a la progresión tumoral, definiendo un subgrupo de tumores con un peor comportamiento y evolución. También se ha visto que una alta concentración de ácido hialurónico en la matriz extracelular potencia la activación del erbB2 y esta acción se realiza además, con otros receptores tirosinquinasa, reflejando un interesante y nuevo mecanismo fisiopatológico. Recientemente, se ha señalado la interrelación de este oncogén con el factor nuclear NF-kappaB y su repercusión en la resistencia a ciertas terapias.

IGF

El sistema factor del crecimiento insulínico (IGF) juega un importante papel en los carcinomas mamarios hormondependientes y la determinación sérica del IGF1 puede ser de interés para precisar mujeres postmenopáusicas con alto riesgo de desarrollar aquel tipo de tumor maligno. Asimismo, interviene en la resistencia al tamoxifeno en relación con el EGFR (34). En los carcinomas mamarios hormonoindependientes se ha descrito una menor expresión del factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF1), mientras que la del receptor del IGF-1 (IGFR-1) y de CYP19 (aromatasa) es mayor, correlacionándose entre sí. El mecanismo de acción del IGFR-1 parece ser diferente según cuál sea la hormonodependencia del tumor; así, en los casos receptores esteroideos positivos activa la Akt fosforilada y la ERK1/2 fosforilada, mientras que en tumores receptores negativos sólo interviene el primer mecanismo bioquímico citado. También se ha descrito en los carcinomas mamarios una relación funcional entre este receptor y la caveolina 1, miembro de una familia de proteínas plasmáticas que intervienen activamente en la orientación citoplasmática de moléculas integrantes en la transducción de la señal celular. La liberación del IGF-1 desde el complejo IGF-1/IGFBP3 parece ser el mecanismo por el cual ciertas proteasas (ADAM28) potencian la proliferación celular. La proteína 2 unidora del factor de crecimiento insulínico (IGFBP2) es un marcador de la resistencia a los antiestrógenos en ciertas líneas celulares tumorales mamarias.

Otro receptor relacionado es el receptor de la insulina, positivo en el 54% de los carcinomas mamarios y asocia-

do con un bajo grado, negatividad para la invasión ganglionar axilar y la positividad para el receptor de progesterona, todo lo cual sugiere un mejor pronóstico.

TUMORES RE- Y RP+

Este subgrupo de carcinomas es poco frecuente (0,1-7% dependiendo de la técnica utilizada) y se caracterizan por presentar una mayor actividad proliferativa, agresividad y peor comportamiento. El número de recidivas es superior al de los tumores RE+ y RP+, pero similar al de los RE- y RP- (35). Asimismo, su mortalidad es tres veces superior a la constatada en los casos con positividad para ambos receptores esteroideos. La presencia del RP hace que puedan responder a la hormonoterapia y que el tamoxifeno sea eficaz al menos durante los primeros años (36). Cuando estos tumores expresan el EGFR, su comportamiento es peor.

TUMORES RE+ Y RP-

Ya hemos hecho referencia a sus posibles causas (pérdida de la sP1; aumento de factores relacionados con el estrés oxidativo y otras no relacionadas con el RE, sino con el RP como la hipermetilación del promotor, pérdida de heterocigosidad del gen del RP y la potenciación de la vía PI3K/Akt/mTOR) (37). Representan un 16-19% de los tumores mamarios (36,38) y, aunque algunos grupos no observan grandes diferencias biológicas con relación a los casos en los que ambos receptores son positivos, a excepción de la respuesta a la hormonoterapia (25 vs. 55%) (39), otros autores han descrito en ellos un mayor tamaño, proliferación y aneuploidía. Suelen expresar EGFR y erbB2 (la ausencia de RP conlleva mayor expresión de erbB2) y se ha visto que la pérdida del gen supresor tumoral PTEN, de gran utilidad para establecer subgrupos de riesgo en los tumores mamarios, determina la del receptor de progesterona, pero no la del receptor de estrógenos (40). El papel de los factores de crecimiento abre la posibilidad de nuevas estrategias terapéuticas, como bloquear la vía RE (inhibidores de la aromatasa), degradar el RE y una terapia combinada vía RE y factores de crecimiento. Su distinta y mejor respuesta a ciertas hormonoterapias en relación a los tumores RE+ RP+ (37,41) no se ha demostrado posteriormente. El intervalo libre de enfermedad es del 77% y la supervivencia global del 72% (36). La quimioterapia con doxorubicina, ciclofosfamida y paclitaxel reduce el número de recidivas y muertes de un modo muy importante y la respuesta es mejor en estos tumores (42). Otras opciones terapéuticas se basan en el uso de los inhibidores de la ciclooxigenasa, del erbB2, la alfa-difluorometilornitina (reduce la capacidad metastática) o la anti Id-1 en los casos con afectación ganglionar axilar. La Id1 es una proteína que interacciona con otros factores de transcripción y juega un papel importante en el crecimiento celular, senescencia y diferenciación.

NUEVOS ASPECTOS BIOLÓGICOS

Entre los nuevos aspectos biológicos relacionados con estos tumores mamarios, merecen ser destacados los siguientes:

La vía de la Akt

Se trata de una quinasa serina-treonina (Fig. 1), involucrada en los mecanismos de transducción de la señal, que es sobreexpresada en el 33% de los carcinomas mamarios. Se asocia con la positividad del oncogén erbB2, se correlaciona inversamente con el RP, pero no con el RE, y determina un peor pronóstico y evolución, especialmente cuando se utiliza como arma terapéutica la hormonoterapia. Su inhibición facilita una mejor respuesta a dicha opción (33). Esta enzima es bloqueada por el gen supresor tumoral HIN-1 (43) y la rapamicina, lo cual resulta de gran efectividad para frenar el crecimiento de los carcinomas *in situ* (44). Merece recordarse que el efecto antiproliferativo del querceptin se ejerce inhibiendo esta vía bioquímica (45).

PTEN

Es un gen supresor tumoral relacionado funcionalmente con la Akt, a la que inhibe (Fig. 1). Su expresión está reducida en un 34% de los carcinomas mamarios y en un 60% de los mismos su promotor está hipermetilado. Su alteración funcional (expresión reducida o nula) se comporta como un factor pronóstico independiente de intervalo libre de enfermedad y de supervivencia global, superando en potencia estadística a otros factores comúnmente utilizados como el estadio clínico y la afectación ganglionar axilar (46-48).

Ciclooxigenasa 2

Es una enzima clave en la síntesis de prostaglandinas. En los carcinomas *in situ* se detecta una sobreexpresión en el 85% de los casos, lo cual se correlaciona con un alto grado nuclear. Merece destacarse que también la zona normal vecina al tumor se tiñe intensamente, lo cual resalta su posible papel fisiopatológico. En los carcinomas invasivos de mama se puede observar una mayor expresi-

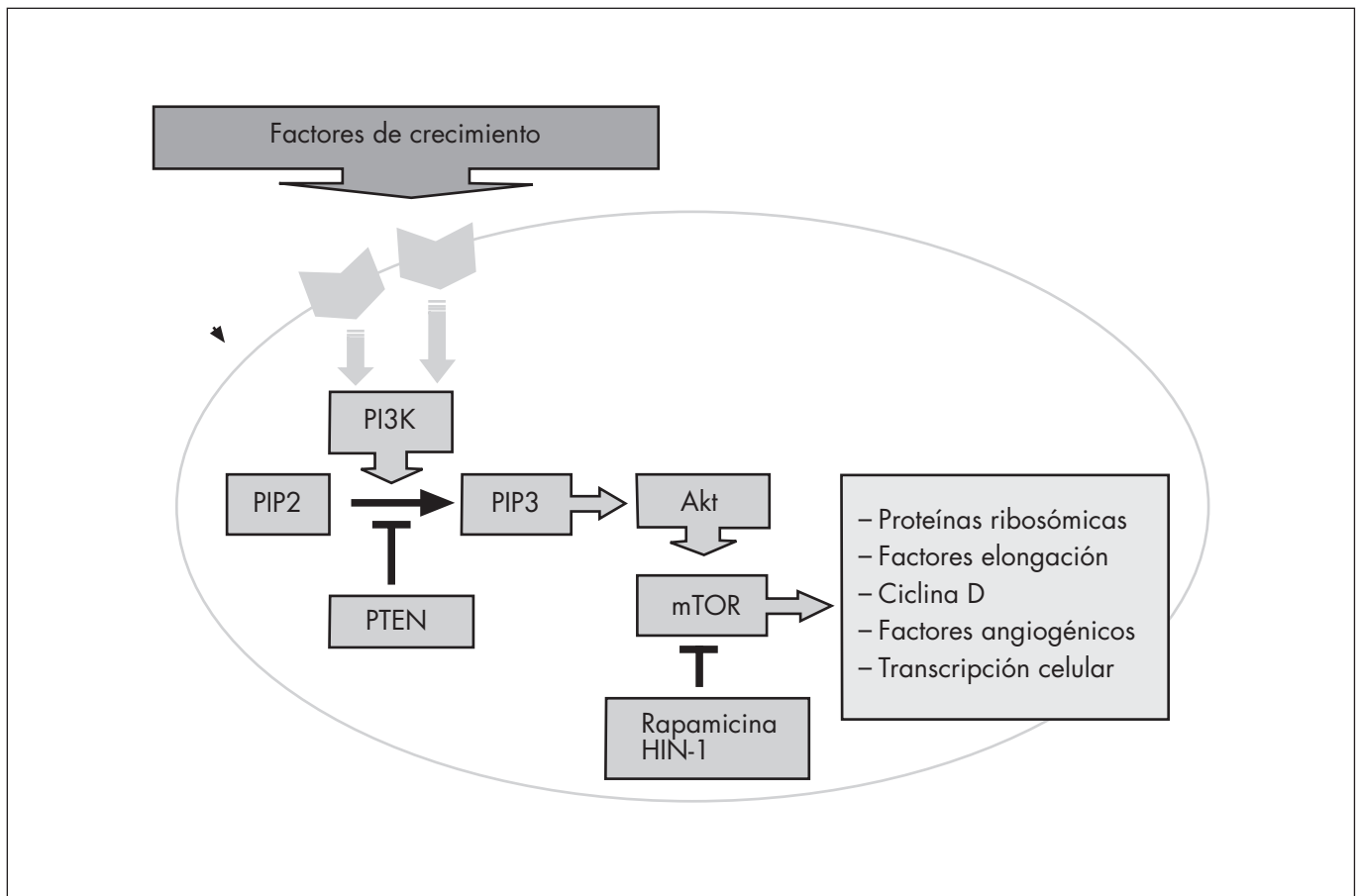


Fig. 1. Esquema de la vía de la Akt, modificada de ref. 54.

sión del mRNA de esta enzima, siendo superior en los tumores RE-. No se correlaciona con el tamaño, grado, invasión linfovascular ni ganglionar regional (49). Esta enzima juega un papel muy importante en las metástasis óseas osteoclasticas (50) y en los tumores mamarios sin afectación ganglionar axilar su sobreexpresión se comporta como un factor pronóstico independiente de un peor comportamiento y evolución, no asociándose a la Akt, MAPK o el erbB2.

La ciclooxigenasa 2 se correlaciona con la aromataasa (51) y a través de su promotor II incrementa su síntesis. Así, la ciclooxigenasa 2 estimula la síntesis de prostaglandina E2 y esta, a través de la vía del AMPc, potencia la expresión de aromataasa en el cáncer de mama y en consecuencia, la de los estrógenos a nivel tisular. También se ha descrito que ciertas citocinas estimulan la síntesis de ciclooxigenasa 2, a través del factor nuclear NF-kappa B y esta la de la aromataasa. El receptor de progesterona ejercería un papel protector neutralizando el efecto del factor nuclear. También su inhibición determina un descenso de la motilidad celular, invasión y expresión de metaloproteinasas (52).

C-KIT

Este receptor con actividad intrínseca tirosín-quinasa se observa en el 27% de los carcinomas mamarios y se correlaciona negativamente con la afectación ganglionar axilar, pero no con el tamaño, grado, receptores de estrógenos, proliferación celular y p53. Su pérdida se asocia a estadios avanzados (53,54).

CONCLUSIONES

Los resultados anteriormente descritos nos inducen a las siguientes conclusiones sobre los tumores hormonoindependientes:

1. Forman un grupo con gran interés etiopatogénico y fisiopatológico.
2. Se asocian a ciertos subtipos histológicos y genéticos.
3. Presentan unos hechos histológicos característicos.
4. Se asocian a ciertos factores indicadores de un peor pronóstico, pero en ocasiones, no son tan "malos" como *a priori* cabría esperar.
5. La expresión de los subtipos de RE y de RP definen subgrupos con un diferente comportamiento y evolución, así como de respuesta a ciertas terapias.
6. Su relación con ciertos factores de crecimiento abre nuevas posibilidades terapéuticas.
7. Los modernos estudios genéticos van a permitir precisar de un modo más eficaz su pronóstico y respuesta a los diferentes tratamientos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Li CI, Daling JR, Malone KE. Incidence of invasive breast cancer by hormone receptor status from 1992 to 1998. *J Clin Oncol* 2003; 21: 28-34.
2. Anderson WF, et al. Effects of estrogen receptor expression and histopathology on annual hazard rates of death from breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2006; May 10.
3. Quong J, Eppenberger-Castori S, Moore DIII, et al. Age-dependent changes in breast cancer hormone receptors and oxidant stress markers. *Breast Cancer Res Treat* 2002; 76: 221-36.
4. Scawn R, Shousha S. Morphologic spectrum of estrogen receptor-negative breast carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126: 325-30.
5. Creighton CJ, Hilger AM, Murthy S, Raer JM, Chinnaiyan AM, Elashry D. Activation of mitogen activated protein kinase in estrogen receptor alpha-positive breast cancer cells in vitro induces an in vivo molecular phenotype of estrogen receptor alpha-negative human breast tumors. *Cancer Res* 2006; 66: 3903-11.
6. Cooper C, Liu GY, Niu YL, Santos S, Murphy LC, Watson PH. Intermittent hypoxia induces proteasome-dependent down-regulation of estrogen receptor alpha in human breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 8720-7.
7. Simpson PT, Reis-Filho JS, Gale T, Lahnani SR. Molecular evolution of breast cancer. *J Pathol* 2005; 205: 248-54.
8. Sabnis GJ, Jelovac D, Long B, Brodie A. The role of growth factor receptor pathways in human breast cancer cells adapted to long term estrogen deprivation. *Cancer Res* 2005; 65: 3903-10.
9. Sparks R, Ulrich CM, Bigler J, et al. UDP-glucuronosyltransferase and sulfotransferase polymorphisms, sex hormone concentrations, and tumor receptor status in breast cancer patients. *Breast Cancer Res* 2004; 6: 488-98.
10. Altundag O, Altundag K, Gunduz M. DNA methylation inhibitor, procainamide, may decrease the tamoxifen resistance by inducing overexpression of the estrogen receptor beta in breast cancer patients. *Med Hypotheses* 2004; 63: 684-7.
11. Forst A, Jin Q, Altieri A, Johansson R, et al. Polymorphisms in the KDR and PSTN genes: Association with breast cancer susceptibility and prognosis. *Breast Cancer Res Treat* 2006; jun 29.
12. Munzone E, Curigliano G, Rocca A, et al. Reverting estrogen-receptor-negative phenotype in HER-2-overexpressing advanced breast cancer patients exposed to trastuzumab plus chemotherapy. *Breast Cancer Res* 2006; 8 (1): R4. Epub 2005 Dec 7.
13. Esserman LJ, Ozanne EM, Dowsett M, Slingerland JM. Tamoxifen may prevent both ER+ and ER- breast cancers and select for ER-carcinogenesis: An alternative hypothesis. *Breast Cancer Res* 2005; 7: 1153-8.
14. Gaffney EV, Halpin DP, Blakemore WS. Relationship between low estrogen receptor values and other prognostic factors in primary breast tumors. *Surgery* 1995; 117: 241-6.
15. Putti TC, El-Rehim DM, Rakha EA, et al. Estrogen receptor-negative breast carcinomas: A review of morphology and immunophenotypical analysis. *Mod Pathol* 2005; 18: 26-35.
16. Umenura S, Takekoshi S, Suzuki Y, Saitoh Y, Tokuda Y, Osamura RY. Estrogen receptor-negative and human epidermal growth factor receptor 2 negative breast cancer tissue have the highest Ki67 labeling index and EGFR expression: Gene amplification does not contribute to EGFR expression. *Oncol Rep* 2005; 14: 337-43.
17. Ruibal A. Cánceres de mama hormonoindependientes. En: *Avances en cancer de mama*. Díaz Faes J, Ruibal A, editores (en prensa).
18. Hahnel R, Spilsbury K. Oestrogen receptors revisited: Long term follow-up of over five thousand breast cancer patients. *ANZ J Surg* 2004; 74: 957-60.
19. Guarneri V, Broglio K, Kau SW, et al. Prognostic value of pathologic complete response after primary chemotherapy in relation to hormone receptor status and other factors. *J Clin Oncol* 2006; 24: 1037-44.
20. Bagai T, Shousha S. Oestrogen receptor negativity as a marker for high grade ductal carcinoma in situ of the breast. *Histopathology* 2003; 42: 440-7.
21. Roka S, Rudas M, Taucher S, et al. High nuclear grade and negative estrogen receptor are significantly risk factors for recurrence in DCIS. *Eur J Surg Oncol* 2004; 30: 243-7.
22. Ruibal A, Arias JI. Afectación ganglionar axilar en carcinomas de

- mama hormonoindpendientes. *Med Clin (Barc)* 2004; 123: 50-2.
23. Ruibal A, Arias JI, del Rio MC, et al. Impacto clínico-biológico de la positividad para la pS2 en los carcinomas ductales infiltrantes de mama RE negativos. *Rev Esp Med Nucl* 2000; 19: 428-33.
 24. Brenton JD, Carey L, Ahmed A, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: Ready for clinical application. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7350-60.
 25. Hennesy BT, Krishnamurthy S, Giordano S, et al. Squamous cell carcinoma of the breast. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7827-35.
 26. Boerner JL, Gibson MA, Fox EM, et al. Estrogen negatively regulates epidermal growth factor (EGF)-mediated signal transducer and activator of transcription 5 signaling in human EGF family receptor-overexpression breast cancer cells. *Mol Endocrinol* 2005; 19: 2660-70.
 27. Shien T, Tashiro T, Omatsu M, et al. Frequent overexpression of epidermal growth factor receptor (EGFR) in mammary high grade ductal carcinomas with myoepithelial differentiation. *J Clin Pathol* 2005; 58: 1299-304.
 28. Hirsch DS, Shen Y, Wu WJ. Growth and motility inhibition of breast cancer cells by epidermal growth factor receptor degradation is correlated with inactivation of cdc42. *Cancer Res* 2006; 66: 3523-30.
 29. Abba MC, Hu Y, Sun H, et al. Gene expresión signatura de estrogen receptor alpha status cancer. *BMC Genomics* 2005; 6: 37-52.
 30. Contessa JN, Abell A, Valerie K, Lin PS, Schmodt-Ullrich RK. erbB receptor tyrosine kinase network inhibition radiosensitizes carcinoma cells. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 65: 851-8.
 31. Klos KS, Wyszomierski SL, Sun M, et al. ErbB2 increases vascular endothelial growth factor protein synthesis via activation of mammalian target of rapamycin/p70S6K leading to increased angiogenesis and spontaneous metastasis of human breast cancer cells. *Cancer Res* 2006; 66: 2028-37.
 32. Di Modugno F, Mottolesse M, Di Benedetto A, et al. The cytoskeleton regulatory protein hMena (ENAH) is overexpressed in human benign breast lesions with high risk of transformation and human epidermal growth factor receptor-2-positive/hormonal receptor-negative tumors. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 1470-8.
 33. Tokunaga E, Kimura Y, Oki E, et al. Akt is frequently activated in HER-2/neu positive breast cancers and associated with poor prognosis among hormone-treated patients. *Int J Cancer* 2006; 118: 284-9.
 34. Knowlden JM, Hutcheson IR, Barrow D, et al. Insulin-like growth factor -I receptor signalling in tamoxifen-resistant breast cancer: A supporting role to the epidermal growth factor receptor. *Endocrinology* 2005; 146: 4609-18.
 35. Keshgegian AA, Cnaan A. Estrogen receptor-negative, progesterone receptor positive breast carcinoma: Poor clinical outcome. *Arch Pathol Lab Med* 1996; 120: 970-3.
 36. Colomer R, Beltran M, Dorcas J, et al. It is not time to stop progesterone receptor testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 38768-9.
 37. Cui X, Schiff R, Arpino G, Osborne KC, Adrian V. Biology of progesterone receptor loss in breast cancer and its implications for endocrine therapy. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7721-35.
 38. Bernoux A, de Cremoux P, Laine-Bidron C, Martin EC, Asselain B, Magdelenat H. Estrogen receptor negative and progesterone receptor positive primary breast cancer: Pathological characteristics and clinical outcome. Institut Curie Breast Cancer Study Group. *Breast Cancer Res Treat* 1998; 49: 219-25.
 39. Bardou VJ, Arpino G, Elledge RM, Osborne CK, Clark GM. Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large breast cancer databases. *J Clin Oncol* 2003; 21: 1973-9.
 40. Kim HJ, Cui X, Hilsenbeck SG, Lee AV. Progesterone receptor loss correlates with human epidermal growth factor receptor 2 overexpression in estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 1013s-8s.
 41. Dowsett M, Cuzick J, Wale Ch, et al. Retrospective analysis of time to recurrence in the ATAC trial according to hormone receptor status: an hypothesis-generating study. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7512-7.
 42. Berry DA, Cirincione C, Henderson IC, et al. Estrogen-receptor status and outcomes of modern chemotherapy for patients with node-positive breast cancer. *JAMA* 2006; 295: 1658-67.
 43. Krop I, Parker MT, Bloushtain-Qimron N, et al. HIN-1, an inhibitor of cell growth, invasion, and AKT activation. *Cancer Res* 2005; 65: 9659-69.
 44. Namba R, Young LJ, Abbey CK, et al. Rapamycin inhibits growth of premalignant and malignant mammary lesions in a mouse model of ductal carcinoma in situ. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 2613-21.
 45. Gulati N, Laudet B, Zohrabian VM, Murali R, Jhanwar-Uniyal M. The antiproliferative effect of Quercetin in cancer cells is mediated via inhibition of the PI3K-Akt/PKB pathway. *Anticancer Res* 2006; 26: 1177-81.
 46. Haiman CA, Stram DO, Cheng I, et al. Common genetic variation at PTEN and risk of sporadic breast and prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15: 1021-5.
 47. Hlobilkova A, Knillova J, Svachova M, Skypalova P, Krystof V, Kolar Z. Tumour suppressor PTEN regulates cell cycle and protein kinase B/Akt pathway in breast cancer cells. *Anticancer Res* 2006; 26: 1015-22.
 48. Engin H, Baltali E, Guler N, Guler G, Tekuzman G, Uner A. Expression of PTEN, cyclin D1, P27/KIP1 in invasive ductal carcinomas of the breast and correlation with clinicopathological parameters. *Bull Cancer* 2006; 93: E21-6.
 49. McCarthy K, Bustin Sam, Ogunkolade B, et al. Cyclo-oxygenase-2 (COX-2) mRNA expression and hormone receptor status in breast cancer. *Eur J Surg Oncol* 2006; Apr 28.
 50. Hiraga T, Myoui A, Choi ME, Yoshikawa H, Yoneda T. Stimulation of cyclooxygenase-2 expression by bone-derived transforming growth factor-beta enhances bone-metastases in breast cancer. *Cancer Res* 2006; 66: 2067-73.
 51. Brueggemeier RW, Duaz-Cruz ES. Relationship between aromatase and cyclooxygenase in breast cancer: Potential for new therapeutic approaches. *Minerva Endocrinol* 2006; 31: 13-26.
 52. Larkins TL, Nowell M, Singh S, Sanford GL. Inhibition of cyclooxygenase-2 decreases breast cancer cell motility, invasion and matrix metalloproteinase expression. *BMC Cancer* 2006; 6: 181.
 53. Tsutsui S, Yasuda K, Suzuki K, et al. A loss of c-kit expression is associated with an advanced stage and poor prognosis in breast cancer. *Br J Cancer* 2006; 94: 1874-8.
 54. Adjei AA, Hidalgo M. Intracellular signal transduction pathway proteins as targets for cancer therapy. *J Clin Oncol* 2005; 23: 5386-403.