



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

TESIS DOCTORAL

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de Doctorado Ciencias de la Salud

PAPEL DE LA FASCINA EN EL COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO DEL CÁNCER DE
MAMA TRIPLE NEGATIVO: ESTUDIO OBSERVACIONAL EN UNA COHORTE
RETROSPECTIVA Y EXPERIMENTAL EN LÍNEAS CELULARES TUMORALES.

Autor:

David Pérez Parra

Directores:

Dr. D. Pablo Conesa Zamora

Dra. D. Ana María Hurtado López

Murcia, marzo de 2026



TESIS DOCTORAL

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de Doctorado Ciencias de la Salud

PAPEL DE LA FASCINA EN EL COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO DEL CÁNCER DE
MAMA TRIPLE NEGATIVO: ESTUDIO OBSERVACIONAL EN UNA COHORTE
RETROSPECTIVA Y EXPERIMENTAL EN LÍNEAS CELULARES TUMORALES

Autor:

David Pérez Parra

Directores:

Dr. D. Pablo Conesa Zamora

Dr. D. Ana María Hurtado López

Murcia, marzo de 2026

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE LA TESIS PARA SU PRESENTACIÓN

El Dr. D. Pablo Conesa Zamora y el Dr. D. Ana María Hurtado López como directores⁽¹⁾ de la Tesis Doctoral titulada “PAPEL DE LA FASCINA EN EL COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO DEL CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO: ESTUDIO OBSERVACIONAL EN UNA COHORTE RETROSPECTIVA Y EXPERIMENTAL EN LÍNEAS CELULARES TUMORALES” realizada por D. David Pérez Parra en el Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud, **autoriza su presentación a trámite** dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firmo, para dar cumplimiento al Real Decreto 99/2011 de 28 de enero, en Murcia a 5 de junio de 2026.

⁽¹⁾ Si la Tesis está dirigida por más de un director tienen que constar y firmar ambos.

RESUMEN

El cáncer de mama triple negativo (TNBC) constituye un subtipo biológicamente agresivo, con mayor incidencia en mujeres jóvenes, elevada tasa de recaída precoz y opciones terapéuticas limitadas debido a la ausencia de dianas moleculares clásicas. La fascina, proteína organizadora del citoesqueleto implicada en migración e invasión celular y codificada por el gen *FSCN1*, se encuentra frecuentemente sobreexpresada en TNBC y se ha asociado a fenotipos de mayor agresividad, resistencia terapéutica y evasión inmune. No obstante, su papel biológico y su potencial valor clínico no están completamente definidos.

Se desarrolló un estudio con doble enfoque. En primer lugar, un análisis retrospectivo de 145 pacientes con TNBC, evaluando la expresión inmunohistoquímica de fascina en células tumorales y miofibroblastos en biopsia inicial y pieza quirúrgica, y su asociación con variables clinicopatológicas, oncológicas y supervivencia global. En segundo lugar, un estudio experimental *in vitro* en las líneas celulares MDA-MB-231 (TNBC) y MCF7 (luminal), analizando viabilidad, migración y expresión de *FSCN1* tras tratamiento con imipramina.

En los casos sin neoadyuvancia, el tamaño tumoral y la afectación ganglionar se confirmaron como factores pronósticos independientes. En pacientes tratados con neoadyuvancia, la afectación ganglionar residual fue el principal determinante pronóstico. La expresión de fascina en células tumorales no mostró valor pronóstico significativo. Sin embargo, la expresión de fascina en miofibroblastos en la biopsia inicial se asoció con mayor probabilidad de respuesta completa histológica, mientras que su expresión en la pieza quirúrgica tras neoadyuvancia se asoció de forma independiente con mejor supervivencia global, lo que sugiere un papel contextual dependiente del microambiente tumoral y de la presión terapéutica. La comparación de la expresión de fascina en células tumorales entre biopsia y pieza quirúrgica evidenció estabilidad en ausencia de tratamiento y posible modulación tras neoadyuvancia.

En los modelos celulares, la imipramina redujo la viabilidad y la migración celular y disminuyó la expresión de *FSCN1*, con un efecto más marcado en el modelo TNBC.

Estos resultados apoyan el eje *FSCN1*-fascina como potencial diana terapéutica y resaltan la relevancia del compartimento estromal en la respuesta al tratamiento en TNBC.

ABSTRACT

Background: Triple-negative breast cancer (TNBC) is an aggressive subtype with limited therapeutic options. Fascin, an actin-bundling protein encoded by the *FSCN1* gene, is frequently overexpressed in TNBC and has been implicated in tumor invasiveness and therapy resistance. Its biological and prognostic role, particularly in the tumor microenvironment, remains incompletely defined.

Methods: We conducted a dual-approach study. First, a retrospective analysis of 145 TNBC patients evaluated immunohistochemical fascin expression in tumor cells and myofibroblasts in both diagnostic biopsies and surgical specimens, assessing associations with clinicopathological features, neoadjuvant therapy response, and overall survival. Second, *in vitro* experiments in MDA-MB-231 (TNBC) and MCF7 (luminal) cell lines examined viability, migration, and *FSCN1* expression after imipramine treatment.

Results: In patients without neoadjuvant therapy, tumor size and nodal involvement were independent prognostic factors. In neoadjuvant-treated cases, residual nodal disease remained the strongest predictor of outcome. Fascin expression in tumor cells showed no significant prognostic value. Notably, fascin expression in myofibroblasts was associated with a higher probability of complete histological response in diagnostic biopsies and with improved overall survival in post-neoadjuvant surgical specimens, suggesting a context-dependent role influenced by the tumor microenvironment and therapeutic pressure. Paired biopsy-surgical specimen analyses indicated stable fascin expression in tumor cells without neoadjuvant therapy, and potential modulation in tumor cells after neoadjuvant treatment. *In vitro*, imipramine reduced cell viability and migration and downregulated *FSCN1*, with a more pronounced effect in TNBC cells.

Conclusions: Fascin in myofibroblasts may serve as a predictive and prognostic marker in TNBC, highlighting the relevance of the stromal compartment. The *FSCN1*–fascin axis represents a potential therapeutic target, and imipramine shows promise as a modulatory agent in TNBC.

PALABRAS CLAVE

Cáncer de mama triple negativo, fascina, *FSCN1*, miofibroblastos, fibroblastos asociados a cáncer, microambiente tumoral, imipramina.

KEY WORDS

Triple-negative breast cancer, fascin, *FSCN1*, myofibroblasts, cancer-associated fibroblasts, tumor microenvironment, imipramine.

AGRADECIMIENTOS

Dedicado a mi familia, que actúa como la parafina que sostiene y preserva mis esperanzas e ilusiones.

Agradezco a todas las personas que, a lo largo de estos años, me han apoyado en este proyecto, tanto de forma profesional como personal, y que han contribuido a mantenerme con cordura.

*"Necesito saber
Dime tu nombre
De dónde sale el Sol
Y de qué se esconde. "*

Robe Iniesta (1962–2025), Extremoduro, "La Ley Innata", 2008.

ÍNDICE GENERAL

I - INTRODUCCIÓN.....	31
1.1. La glándula mamaria	31
1.2. Estructura anatómica e histológica de la mama.....	31
1.3. El cáncer de mama.....	34
1.3.1. Incidencia	34
1.3.2. Etiología.....	34
1.3.3. Alteraciones genéticas en el cáncer de mama	35
1.3.4. Subtipos moleculares y clasificación clínica del cáncer de mama.....	38
1.4. Cribado de carcinoma invasivo de mama y diagnóstico por imagen.....	40
1.5. Diagnóstico histológico del carcinoma invasivo de mama	43
1.5.1. Subtipos histológicos	43
1.5.2. Grado histológico	46
1.5.3. Tamaño tumoral	48
1.5.4. Diseminación linfática: invasión linfovascular, afectación ganglionar y extensión extracapsular	48
1.5.5. Otros parámetros histológicos de interés	48
1.6. Inmunohistoquímica en el cáncer de mama	49
1.6.1. Receptores hormonales (RH).....	49
1.6.2. HER2	50
1.6.3. Ki-67	51
1.6.4. p53	51
1.6.5. BCL2.....	51
1.6.6. CK19.....	51

1.7. Estadificación del cáncer de mama	52
1.8. Tratamiento quirúrgico del cáncer de mama	59
1.8.1. Cirugía conservadora de mama	59
1.8.2. Mastectomía	60
1.8.3. Abordaje quirúrgico axilar.....	60
1.9. Tratamiento oncológico del cáncer de mama.....	61
1.9.1. Hormonoterapia	62
1.9.2. Quimioterapia.....	62
1.9.3. Terapias dirigidas.....	62
1.9.4. Inmunoterapia	63
1.10. Respuesta histológica tras neoadyuvancia	63
1.11. La molécula de fascina	64
1.11.1. Estructura de la fascina	64
1.11.2. Función fisiológica	66
1.11.3. Funciones no canónicas e implicaciones clínicas	66
1.12. Microambiente tumoral	68
1.12.1. Células del sistema inmune	68
1.12.2. Células del estroma peritumoral.....	69
1.12.3. Matriz extracelular (MEC) y transición epitelio-mesénquima (TEM)	70
II. JUSTIFICACIÓN	75
Hipótesis de trabajo.....	76
III. OBJETIVOS.....	79
3.1. Objetivos principales	79
3.2. Objetivos secundarios	79
IV - MATERIAL Y MÉTODO	83
4.1. Selección de pacientes y muestras	83

ÍNDICE GENERAL

4.2. Construcción de micromatrices de tejido	85
4.3. Análisis de fascina en tejido parafinado	86
4.4. Líneas celulares: viabilidad, ensayos migración y efectos de tratamiento... 89	
4.5. RNA-seq y análisis de datos	90
4.6. Análisis estadístico	91
4.7. Consideraciones éticas	92
V - RESULTADOS.....	95
5.1. Características de la cohorte	95
5.1.1. Número de casos	95
5.1.2. Edad, sexo y lateralidad	95
5.2. Número de muestras y variables que influyen en su distribución	95
5.2.1. Número de muestras	95
5.2.2. Administración de tratamiento quimioterápico neoadyuvante	96
5.2.3. Tratamiento quirúrgico tumoral y axilar	96
5.3. Alteraciones genéticas germinales.....	97
5.4. Variables histopatológicas y moleculares	97
5.4.1. Grado histológico	97
5.4.2. Subtipo histológico.....	98
5.4.3. HER2	98
5.4.4. Ki-67, p53, BCL2 y CK19	98
5.5. Expresión inmunohistoquímica de fascina en células tumorales.....	99
5.6. Caracterización de miofibroblastos como células que expresan fascina.....	99
5.7. Expresión inmunohistoquímica de fascina en células del microambiente tumoral: miofibroblastos.	100
5.8. Comparación valores de fascina en biopsia inicial y pieza quirúrgica.....	101
5.9. Variables oncológicas grupo sin neoadyuvancia	102
5.9.1. pTNM.....	102

5.9.2. Extensión extracapsular ganglionar	103
5.9.3. Estadio pronóstico inicial	103
5.9.4. Tratamiento quimioterápico adyuvante	103
5.9.5. Metástasis extraganglionar a diagnóstico o seguimiento	103
5.10. Variables oncológicas grupo con neoadyuvancia	103
5.10.1. TNM inicial (cTNM)	104
5.10.2. Estadio pronóstico inicial	104
5.10.3. TNM tras tratamiento (ypTNM)	104
5.10.4. Respuesta completa (ypT0 ypN0/ Miller y Payne Grado 5).....	104
5.10.5. Extensión extracapsular ganglionar	105
5.10.6. Tratamiento quimioterápico adyuvante	105
5.10.7. Metástasis extraganglionar a diagnóstico o seguimiento	105
5.11. Análisis descriptivo supervivencia.....	105
5.12. Asociación de expresión de fascina (biopsia inicial) con variables clínico-patológicas, germinales e inmunohistoquímicas.....	106
5.13. Asociaciones de expresión de fascina con variables oncológicas en casos sin neoadyuvancia.....	108
5.14. Asociaciones de expresión de fascina con variables oncológicas en casos con neoadyuvancia.....	110
5.14.1. Evaluación de respuesta completa (ypT0 ypN0)	111
5.15. Análisis de supervivencia en casos sin neoadyuvancia.....	112
5.16. Análisis de supervivencia en casos con neoadyuvancia.....	114
5.17. Líneas celulares: efecto imipramina líneas celulares luminales y TNBC	117
VI - DISCUSIÓN.....	121
6.1. Expresión de fascina en células tumorales	122
6.2. Expresión de fascina en miofibroblastos.....	124
6.3. Implicaciones terapéuticas: imipramina.....	125

ÍNDICE GENERAL

6.4. Integración de hallazgos clínicos y preclínicos	126
VII - CONCLUSIONES	129
7.1. En relación con los objetivos principales	129
7.2. En relación con los objetivos secundarios.....	130
VIII - LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.....	133
8.1. Limitaciones	133
8.2. Futuras líneas de investigación	134
IX - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	137
X - ANEXOS	157

SIGLAS Y ABREVIATURAS

ADN, Ácido desoxirribonucleico

ARN, Ácido ribonucleico

AJCC, American Joint Committee on Cancer

ATCC, American Type Culture Collection

BAG, biopsia con aguja gruesa

BAV, biopsia asistida por vacío

BI-RADS, Sistema de clasificación de mamografía “Breast Imaging and Data System”

CAFs, Fibroblastos asociados a cáncer (“Cancer-Associated Fibroblasts”)

cDNA, ADN complementario

DCIS, Carcinoma ductal *in situ* (“Ductal Carcinoma *in situ*”)

ddNTPs, dideoxinucleótidos trifosfato

dPCR, PCR digital (“Digital PCR”)

HR, Hazard Ratio, cociente de riesgo de supervivencia

IBC, Carcinoma invasivo de mama (“Invasive Breast Cancer”)

IC, Intervalo de confianza

IC₅₀, Concentración inhibitoria media

IFN- γ , Interferón gamma

IMC, Índice de masa corporal

IMIB, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria

ITCs, Células tumorales aisladas (“Isolated Tumor Cells”)

ISH, técnicas de hibridación *in situ*

MEC, Matriz extracelular

NGS, Secuenciación de nueva generación (“Next Generation Sequencing”)

NST, Carcinoma de tipo no especial (“No Special Type”)

pCR, respuesta histológica completa (“Pathological Complete Response”)

PCR, Reacción en cadena de la polimerasa

qPCR, PCR cuantitativa en tiempo real (“Quantitative PCR”)

OR, Odds Ratio, valor de asociación

RE, Receptor de estrógenos

RH, Receptores hormonales

RP, Receptores de progesterona

RT-PCR, PCR con transcripción inversa

SEAP, Sociedad Española de Anatomía Patológica

SEOM, Sociedad Española de Oncología Médica

SERM, Moduladores selectivos del receptor de estrógenos

TEM, Transición epitelio-mesénquima (tumoral)

TMA, Micromatrices de tejido parafinado (“Tissue Microarrays”)

TNBC, Cáncer de mama triple negativo (“Triple-Negative Breast Cancer”)

ÍNDICE DE FIGURAS, DE TABLAS Y DE ANEXOS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía de la mama femenina	32
Figura 2. Arquitectura histológica mamaria	33
Figura 3. Ejemplos radiológicos de categorías BI-RADS en distintas modalidades de imagen: mamografía, ecografía y resonancia magnética.	41
Figura 4. Ejemplos de subtipos histológicos de cáncer de mama	46
Figura 5. Patrones histológicos representativos de tinción IHQ para HER2 en carcinoma mamario invasivo con scores 0, 1+, 2+ y 3+.	50
Figura 6. Estructura cristalográfica de fascina con los cuatro dominios β -trefoil coloreados.....	65
Figura 7. Esquema del microambiente tumoral.....	71
Figura 8. Ejemplos de tinciones para fascina en células tumorales y miofibroblastos.....	88
Figura 9. Tinciones (20x-40x) para caracterización inmunohistoquímica de miofibroblastos.....	100
Figura 10. Gráficas de supervivencia para grupo de pacientes sin neoadyuvancia según pT y pN	114
Figura 11. Gráficas de supervivencia para grupo de pacientes con neoadyuvancia según miofibroblastos pieza quirúrgica, ypT e ypN.....	116
Figura 12. Efecto de la imipramina en los ensayos de migración celular en líneas celulares de cáncer de mama.	117
Figura 13. Expresión diferencial de FSCN1 en las líneas celulares MDA-MB-231 y MCF7 tras el tratamiento con imipramina.....	118

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Subtipos clínicos de cáncer de mama.....	39
Tabla 2. Categorías BI-RADS para hallazgos en mamografía.....	40
Tabla 3. Características de las pruebas diagnósticas de imagen.....	42
Tabla 4. Grado de diferenciación histológica del cáncer de mama.	47
Tabla 5. Clasificación T del sistema TNM de cáncer de mama.....	53
Tabla 6. Clasificación N clínica del sistema TNM de cáncer de mama.....	54
Tabla 7. Clasificación N patológica del sistema TNM de cáncer de mama.....	55
Tabla 8. Clasificación M del sistema TNM de cáncer de mama.....	56
Tabla 9. Estadio anatómico del cáncer de mama según AJCC (8. ^a edición).....	57
Tabla 10. Resumen de estadios pronósticos de AJCC para TNBC.	58
Tabla 11. Correlación aproximada entre la escala de Miller y Payne y la clasificación RCB.	64
Tabla 12. Evaluación de fascina en células tumorales.....	87
Tabla 13. Evaluación de fascina en miofibroblastos	87
Tabla 14. Expresión de fascina en células tumorales de biopsia inicial y pieza quirúrgica	99
Tabla 15. Expresión de fascina en miofibroblastos de biopsia inicial y pieza quirúrgica	101
Tabla 16. Cambios en la expresión de fascina entre biopsia inicial y pieza quirúrgica.	102
Tabla 17. Asociación estadística entre expresión de fascina en células tumorales y variables clínico-patológicas, germinales e inmunohistoquímicas.....	106
Tabla 18. Asociación estadística entre expresión de fascina en miofibroblastos y variables clínico-patológicas, germinales e inmunohistoquímicas.	107
Tabla 19. Asociación estadística entre expresión de fascina en células tumorales y variables oncológicas en casos sin neoadyuvancia	108

Tabla 20. Asociación estadística entre expresión de fascina en miofibroblastos y variables oncológicas en casos sin neoadyuvancia.	109
Tabla 21. Asociación estadística entre expresión de fascina en células tumorales y variables oncológicas en casos con neoadyuvancia	110
Tabla 22. Asociación estadística entre expresión de fascina en miofibroblastos y variables oncológicas en casos con neoadyuvancia	111
Tabla 23. Evaluación de respuesta completa (ypT0 ypN0) en grupo de pacientes con tratamiento neoadyuvante.....	112
Tabla 24. Análisis de supervivencia global en casos sin neoadyuvancia	113
Tabla 25. Análisis de supervivencia global en casos con neoadyuvancia.	115

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Publicación derivada de los resultados de la tesis.....	157
Anexo 2. Informe favorable del Comité de Ética de la Investigación del Hospital Sta. M ^a del Rosell, Áreas II y VIII Servicio Murciano de Salud (estudio observacional).....	170
Anexo 3. Informe favorable del Comité de Ética de la Investigación del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Área I Servicio Murciano de Salud (estudio experimental).....	172
Anexo 4. Dictamen del Comité de Ética de la Universidad Católica de Murcia .	173

I – INTRODUCCIÓN

I - INTRODUCCIÓN

1.1. LA GLÁNDULA MAMARIA

La mama es un órgano glandular localizado en la parte anterior del tórax. Es común a todos los mamíferos de ambos sexos, si bien se encuentra completamente desarrollada en el sexo femenino.

En la especie humana las mamas suelen desarrollarse en número par, se localizan por debajo de la piel y constituyen una especie de glándulas apocrinas sudoríparas altamente especializadas. Están formadas por tejido conectivo, grasa y tejido epitelial glandular mamario (1,2)

Las glándulas mamarias de ambos sexos siguen un desarrollo similar hasta la pubertad. A partir de este momento, en el caso de la mujer, y debido al influjo hormonal procedente de los ovarios y la hipófisis, experimentan un desarrollo progresivo. No es sino hasta el embarazo cuando, fisiológicamente, la mama completa el desarrollo y adquiere la capacidad de producir leche.

Hasta la menopausia, la mama experimenta cambios cíclicos acordes con las distintas fases del ciclo ovárico. Tras la menopausia, las mamas, al igual que otros órganos reproductores femeninos, sufren cambios involutivos y atróficos (1)

1.2. ESTRUCTURA ANATÓMICA E HISTOLÓGICA DE LA MAMA

En el caso de la mama desarrollada, es decir, la mama femenina, esta está constituida por entre 15 y 25 unidades independientes denominadas lóbulos mamarios. Cada uno de ellos está formado por un complejo túbulo-acinar glandular, constituidos a su vez por ductos y lobulillos mamarios.

El tamaño de los lóbulos es variable y gran parte del volumen mamario depende de un número relativamente reducido de lóbulos de gran tamaño que conectan con la superficie a través del pezón. Inmediatamente antes de su desembocadura en la superficie, los ductos presentan una dilatación conocida

como senos lactíferos. Por el contrario, los lóbulos más pequeños terminan en conductos ciegos que no alcanzan la superficie del pezón.

Cada uno de los lobulillos mamarios se ramifica repetidamente para formar una serie de conductos, los cuales están constituidos a su vez por múltiples acinos. Estos lóbulos se encuentran embebidos en una masa de tejido adiposo separada por tabiques colágenos que proporcionan sostén al parénquima mamario (Figura 1).

El pezón contiene bandas de músculo liso orientadas en paralelo a los conductos galactóforos y dispuestas concéntricamente cerca de la base. La piel que rodea el pezón, denominada areola, está pigmentada y contiene glándulas sebáceas no asociadas a los folículos pilosos (1).

Figura 1. Anatomía de la mama femenina

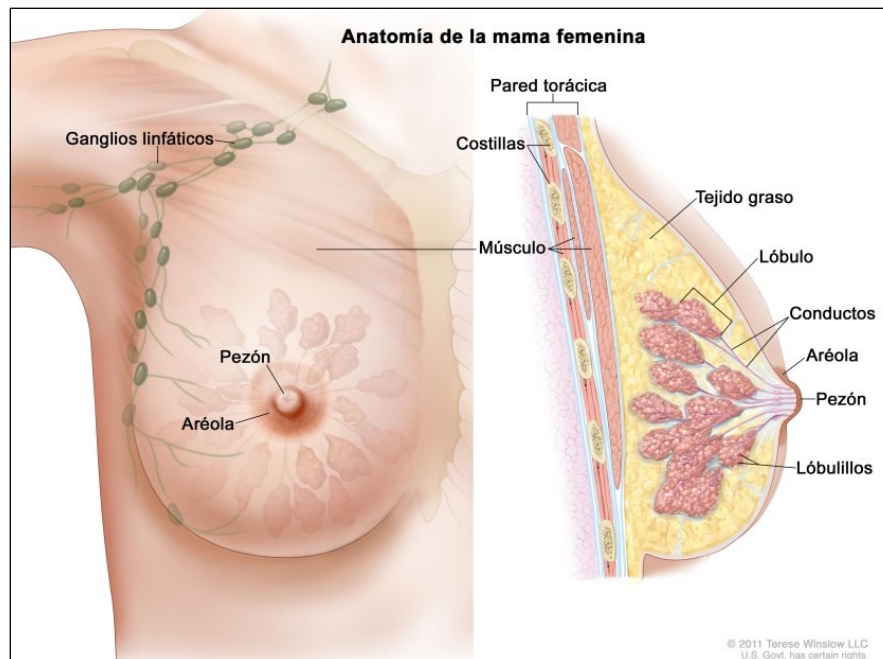


Imagen extraída de NCI Visuals Online (National Cancer Institute, USA). Image ID 9721. Disponible en: <https://visualsonline.cancer.gov/details.cfm?imageid=9721> (consultado el 16 dic 2025).

Histológicamente, los ductos y acinos mamarios están constituidos por una doble capa celular, formada por una capa epitelial (Figura 2, letra E) y una capa inferior de células mioepiteliales (Figura 2, letra M).

En los ductos de mayor tamaño, las células epiteliales son de tipo columnar, mientras que en ductos de menor tamaño y en los acinos adoptan una morfología cuboidal

Figura 2. Arquitectura histológica mamaria

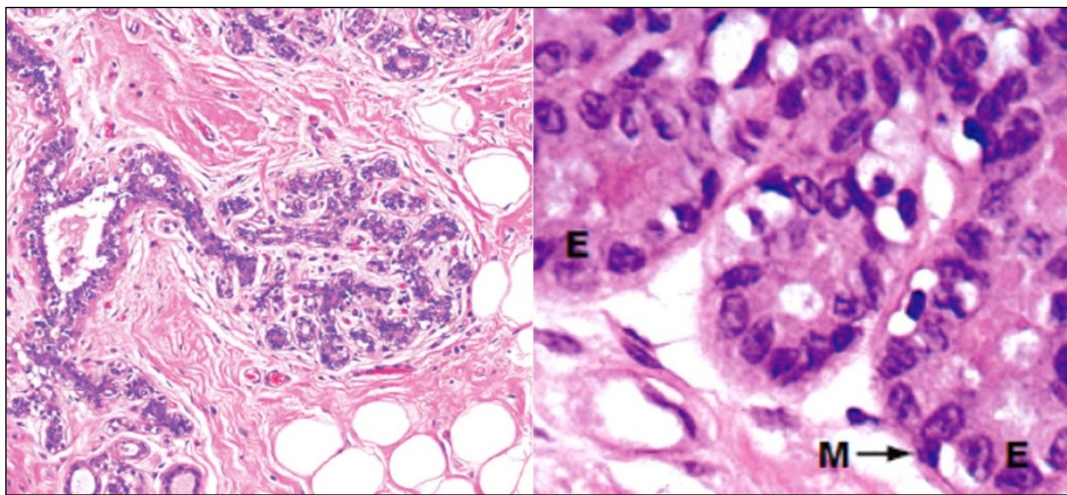


Figura de elaboración propia basada en la adaptación y combinación de imágenes procedentes de Wheater's Functional Histology: A Text and Colour Atlas, 6.ª ed

El epitelio ductal mamario reacciona a hormonas como los estrógenos y la progesterona, así como a otras hormonas como la prolactina, la gonadotropina coriónica humana, la tiroxina y los corticoesteroides.

Bajo el influjo de estrógenos y progesterona, el epitelio ductal mamario experimenta diferentes cambios. Al principio del ciclo, bajo influjo estrogénico, el epitelio cuboidal se vuelve más prominente y puede presentar secreción eosinofílica. Posteriormente, en presencia de estrógenos y progesterona, el epitelio ductal prolifera y aumenta el número de acinos secretores.

Durante el embarazo, debido al influjo de la gonadotropina coriónica y la prolactina, los acinos mamarios secretan calostro, que posteriormente se transformará en leche tras el parto.

En lo referente a las células mioepiteliales, la oxitocina estimula su contracción, favoreciendo así la eyección de la leche (1).

1.3. EL CÁNCER DE MAMA

El concepto del cáncer de mama, o más correctamente, carcinoma invasivo de mama (IBC por sus siglas en inglés de *invasive breast carcinoma*) hace referencia a un conjunto de neoplasias malignas heterogéneas de origen epitelial derivadas de los elementos glandulares de la mama (3).

1.3.1. Incidencia

El cáncer de mama constituye la neoplasia más comúnmente diagnosticada en mujeres (el 24% de los cánceres femeninos) (4). Si se considera este porcentaje en ambos sexos, representa el 11,6 % de todos los cánceres diagnosticados, siendo el segundo cáncer más frecuente (5).

La incidencia del cáncer de mama ha aumentado progresivamente en los últimos años. La incidencia en los países de ingresos bajos o medios ha mostrado un incremento sostenido, mientras que en países de altos ingresos como Estados Unidos, Canadá y Reino Unido las tasas de incidencia han mostrado una ligera disminución desde la década del 2000, en parte atribuida al descenso del uso del tratamiento hormonal postmenopáusico (6,7).

En el caso de España, en el documento “Las cifras del cáncer en España” de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) (8) recoge los datos de incidencia, mortalidad y supervivencia de cáncer en España, mostrando un aumento del número de casos diagnosticados, acompañados de un descenso de la mortalidad, lo que pone de manifiesto la mejoría en el pronóstico, destacando especialmente el cáncer de mama en mujeres.

1.3.2. Etiología

El origen del cáncer de mama se considera multifactorial. La mayoría de los estudios apuntan a factores hormonales, reproductivos y genéticos, así como a factores relacionados con el estilo de vida, entre los que destaca la dieta, como

principales factores de riesgo. La enfermedad ocurre con mayor frecuencia entre mujeres que han tenido una menarquia precoz, que son nulíparas o presentan baja paridad, y en aquellas que tienen una edad materna avanzada en el nacimiento del primer hijo (9,10). A su vez existen numerosos estudios que demuestran que el uso de esteroides sexuales orales constituye un claro factor de riesgo (11).

Más que otras neoplasias, el cáncer de mama presenta clara agrupación familiar. Se han identificado dos genes de alta penetrancia: *BRCA1* y *BRCA2*; claramente relacionados con el riesgo de desarrollar cáncer de mama. Otros polimorfismos genéticos se han asociado como genes de penetrancia media o baja implicados en la susceptibilidad a la enfermedad. En conjunto, los datos obtenidos hasta la fecha sugieren un origen poligénico de esta enfermedad (12).

Se han sugerido factores etiológicos específicos como causa de diferentes subtipos clínico-moleculares de cáncer de mama) (13). Las mutaciones germinales de *BRCA1* y la paridad se han asociado al riesgo de cáncer de mama triple negativo (TNBC por sus siglas en inglés "*Triple Negative Breast Cancer*"), mientras que mutaciones germinales de *BRCA2*, la menarquia precoz, menopausia tardía, tratamiento hormonal postmenopáusico, índice de masa corporal (IMC) aumentado, nuliparidad y edad avanzada se han asociado con el cáncer de mama con receptores hormonales positivos. Por otra parte, la mayor duración de la lactancia se ha asociado con descenso de riesgo de todos los subtipos (14,15).

1.3.3. Alteraciones genéticas en el cáncer de mama

El IBC es una patología heterogénea en la que se han identificado múltiples alteraciones genéticas y epigenéticas que contribuyen al desarrollo y progresión tumoral. Estas mutaciones afectan a genes supresores de tumores, oncogenes y mecanismos relacionados con la inestabilidad genómica, así como a alteraciones de la reparación de ADN y modificaciones epigenéticas (12). A continuación, se describen algunas de las más relevantes.

1.3.3.1 Mutaciones en genes supresores de tumores

Los genes supresores de tumores regulan funciones clave del ciclo celular, la reparación del ADN y la apoptosis en respuesta a alteraciones genéticas relevantes. Su inactivación favorece la proliferación celular descontrolada.

- ***BRCA1* y *BRCA2***: son genes supresores de tumores, cuya función principal consiste en la reparación del ADN mediante recombinación homóloga. Su inactivación conduce a la acumulación de daño en el ADN, lo que aumenta la inestabilidad genómica y predispone a la transformación maligna (16).
- ***TP53***: este gen codifica la proteína p53, clave en la regulación de la apoptosis y en la respuesta celular al daño del ADN. La pérdida de función de p53 permite que las células con alteraciones en el ADN eviten la apoptosis y continúen dividiéndose (17).
- ***PTEN***: gen supresor tumoral implicado en la regulación de la vía PI3K/AKT. La activación de dicha vía promueve la proliferación celular. La pérdida de función de *PTEN* condiciona la activación permanente de esta vía. Se han descrito mutaciones o deleciones de *PTEN* en el cáncer de mama esporádico y en el síndrome de Cowden, entidad que predispone al desarrollo de cáncer de mama hereditario (18).

1.3.3.2. Activación de oncogenes

Los oncogenes codifican proteínas que promueven el crecimiento y división celular, su activación patológica favorece el desarrollo y progresión tumoral.

- ***HER2/ERBB2***: la amplificación y sobreexpresión de *HER2* se observa aproximadamente en el 15-20% de los cánceres de mama. Esta alteración activa vías de señalización intracelular como PI3K/AKT y MAPK, favoreciendo la proliferación celular y la resistencia a la apoptosis (19).
- ***PIK3CA***: este gen codifica una subunidad del fosfatidilinositol 3-quinasa (PIK3), y presenta mutaciones en aproximadamente el 30-

40% de los cánceres de mama. Su mutación activa la vía PIK3/AKT, promoviendo la proliferación celular (20).

- **MYC:** la amplificación de este oncogén se ha descrito en diversos tipos de cáncer, incluido el cáncer de mama. MYC regula la expresión de genes involucrados en la proliferación celular, el metabolismo y la síntesis proteica. Su activación anormal se asocia a tumores de alto grado y con mayor agresividad biológica (21).
- **BCL2:** este gen codifica una proteína reguladora de la apoptosis. Su sobreexpresión, frecuente en el IBC, confiere a las células tumorales una mayor resistencia a la apoptosis mediante la inhibición de proteínas proapoptóticas (22).

1.3.3.3 Inestabilidad genómica y alteraciones en la reparación del ADN

La inestabilidad genómica es una de las características del IBC y se manifiesta como deleciones, traslocaciones, amplificaciones y otras alteraciones cromosómicas.

- **Deficiencia en la reparación del ADN:** como se ha mencionado previamente, *BRCA1* y *BRCA2* desempeñan un papel fundamental en la reparación del ADN. Cuando estos genes se encuentran mutados, la célula depende que son más propensos a errores y pueden generar inestabilidad genómica (23).
- **Alteraciones de RAD51:** RAD51 es otra proteína clave en la recombinación homóloga. Su alteración puede comprometer aún más la capacidad de las células para reparar el ADN de forma eficaz (24).
- **Alteraciones cromosómicas recurrentes:** en el IBC se han identificado cambios cromosómicos recurrentes como la amplificación del 8q24 (donde se encuentra *MYC*), 17q12 (localización de *HER2*) y deleción de 13q14 (ubicación de *RB1*). Estas alteraciones cromosómicas pueden favorecer el crecimiento tumoral y contribuir a la resistencia terapéutica (25,26)

1.3.3.4. Alteraciones epigenéticas

Además de por las alteraciones a nivel genético, el cáncer de mama, al igual que otras neoplasias, está influenciado por modificaciones epigenéticas que regulan la expresión génica. Entre ellas se encuentran:

- **Hipermetilación de genes supresores de tumores:** La metilación no fisiológica de las regiones promotoras de los genes supresores tumorales como *BRCA1*, *CDH1* y *RASSFA1*, produce su silenciamiento transcripcional (27).
- **Modificación de las histonas:** Se producen cambios en la metilación y acetilación de las histonas, lo que puede alterar la estructura de la cromatina e influir en la expresión de genes clave en la regulación del ciclo celular (28).
- **Regulación por microARNs (miRNA):** los microARNs son pequeñas moléculas de ARN no codificante que regulan la expresión génica a nivel postranscripcional, pudiendo actuar como oncogenes o genes supresores de tumores.

1.3.4. Subtipos moleculares y clasificación clínica del cáncer de mama

El IBC es una neoplasia heterogénea con diferente comportamiento y distinta respuesta a los tratamientos realizados. El trabajo de Perou y Sorlie (29) sentó las bases para la clasificación molecular del cáncer de mama según perfiles de expresión génica específicos. Entre los hallazgos observados más relevantes destacó la diferente expresión del receptor de estrógenos (RE) y de HER2/neu, así como la correlación entre la expresión génica del IBC y factores histológicos como la proliferación tumoral.

En el trabajo previamente citado se identificaron dos grandes tipos de células epiteliales implicadas en el IBC: las células basales (y/o mioepiteliales) y las células epiteliales luminales, ambas identificables mediante técnicas de inmunohistoquímica. Las células basales expresan queratinas 5/6, mientras que las células luminales expresan queratinas 8/18. El principal factor diferencial entre ambas poblaciones fue la expresión del RE.

Los tumores con expresión de RE presentaban un perfil génico característico de las células luminales, incluyendo la expresión de queratinas 8/18, y generalmente no mostraban sobreexpresión de HER2/neu. Por el contrario, los tumores de tipo basal (basal-like) se caracterizan por la expresión de queratinas basales 5/6 y 17. Este subtipo representa aproximadamente el 15 % de los cánceres de mama (29). Por otra parte, los tumores con sobreexpresión de HER2/neu constituyen otro grupo molecular diferenciado asociado a perfiles específicos de expresión génica.

Dada la heterogeneidad del IBC, y con el objetivo de establecer una clasificación de utilidad clínica, diversos trabajos como los de Konecny et al. (30) y Eiermann et al. (31)) propusieron una clasificación simplificada aplicable a la práctica clínica. Esta clasificación incluye los siguientes subtipos: cáncer de mama luminal (tipos A y B), cáncer de mama con sobreexpresión de HER2 y cáncer de mama triple negativo (TNBC), este último considerado una aproximación clínica del subtipo molecular “basal-like”. Las principales características de estos subtipos se presentan en la Tabla 1 y se desarrollarán con mayor detalle en la sección de parámetros histológicos.

Tabla 1. Subtipos clínicos de cáncer de mama

Subtipo clínico	Características
Luminal	Conjunto de neoplasias con receptores hormonales positivos y HER2 negativo
Luminal A	Presenta características moleculares de buen pronóstico: expresión de receptores hormonales elevada, baja proliferación celular, generalmente grados histológicos 1 y 2
Luminal B	Presenta características moleculares asociadas a peor pronóstico: menor expresión de receptores hormonales, alta proliferación celular y grado histológico generalmente 3
HER2 Positivo	Sobreexpresión de HER2, con receptores hormonales positivos o negativos, habitualmente asociado a grado histológico 3
Triple negativo	Ausencia de expresión de receptores hormonales y de HER2, generalmente asociado a grado histológico 3

1.4. CRIBADO DE CARCINOMA INVASIVO DE MAMA Y DIAGNÓSTICO POR IMAGEN

En lo referente al cáncer de mama, existe una amplia evidencia científica procedente de ensayos clínicos aleatorizados que demuestran que el cribado mediante mamografía reduce la mortalidad específica por esta enfermedad en mujeres entre 50 y 59 años, y especialmente en el grupo de 60 a 69 años, donde el grado de evidencia es mayor (32).

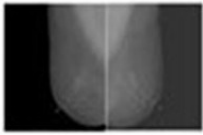
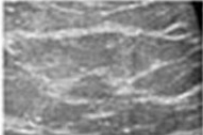
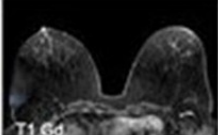
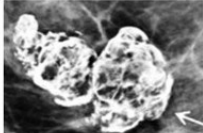
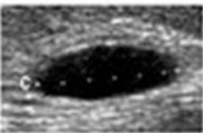
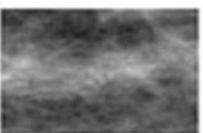
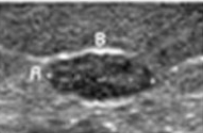
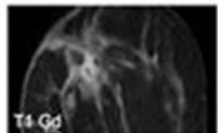
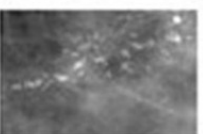
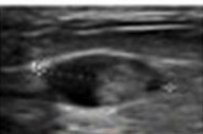
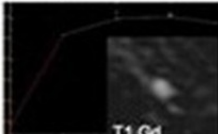
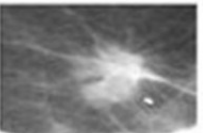
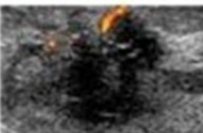
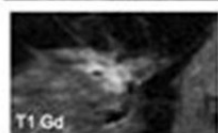
En el contexto del cribado mediante mamografía, el sistema Breast Imaging Reporting and Data System (BI-RADS) constituye un método estandarizado de clasificación radiológica basado en los hallazgos mamográficos. Este sistema permite establecer un grado de sospecha de malignidad y orientar la actitud clínica en cada caso.

A continuación, en la Tabla 2 se describen las principales categorías BI-RADS, su significado y la actitud recomendada (33), junto con ejemplos ilustrativos en la Figura 3

Tabla 2. Categorías BI-RADS para hallazgos en mamografía

BI-RADS	Descripción	Recomendación
0	Estudio incompleto	Estudios adicionales
1	Mama normal, sin hallazgos sospechosos	Seguimiento habitual
2	Hallazgos benignos (probabilidad de cáncer similar a la población general)	Seguimiento habitual
3	Probablemente benigno (<2% riesgo de malignidad)	Seguimiento a los 6-12 meses
4A	Baja sospecha de malignidad (2-10%)	Se recomienda biopsia
4B	Sospecha moderada malignidad (10-50%)	Se recomienda biopsia
4C	Alta sospecha de malignidad (50-95%)	Se recomienda biopsia
5	Alta probabilidad de malignidad (> 95 %)	Biopsia y tratamiento según resultado
6	Malignidad confirmada por biopsia	Manejo oncológico

Figura 3. Ejemplos radiológicos de categorías BI-RADS en distintas modalidades de imagen: mamografía, ecografía y resonancia magnética.

Categoría BI-RADS	Mamografía	Ecografía	Resonancia magnética
1			
2			
3			
4			
5			

Elaboración propia a partir de ejemplos de The Radiology Assistant – BI-RADS for Mammography and Ultrasound (RadiologyAssistant.nl) (<https://radiologyassistant.nl/breast/bi-rads-for-mammography-and-ultrasound-2013>). Consultado el 15 de diciembre de 2025.

En función del grado de sospecha derivado de las pruebas de imagen, se indicará la realización de una biopsia para la obtención de material histológico y la confirmación diagnóstica.

Además de la mamografía, existen diversas técnicas de imagen que pueden contribuir al diagnóstico, al estadiaje y al seguimiento de los pacientes. Dado que una revisión detallada de estas técnicas excede los objetivos de este trabajo, en la Tabla 3 se resumen las principales pruebas de imagen, sus ventajas e indicaciones en el diagnóstico del cáncer de mama.

Tabla 3. Características de las pruebas diagnósticas de imagen

Prueba de imagen	Ventaja	Indicaciones
Mamografía	· Método estándar para la detección temprana · Alta disponibilidad y coste relativamente bajo	· Cribado en mujeres de 50-69 años · Evaluación de anomalías palpables
Ecografía mamaria	· Permite diferenciar lesiones sólidas y quísticas. · Sin radiación ionizante. · Útil en mamas densas.	· Prueba complementaria a la mamografía en mamas densas. · Guía para biopsias.
Resonancia Magnética (RM) mamaria	· Alta sensibilidad para la detección de cáncer. · Útil en mujeres con alto riesgo. · No utiliza radiación ionizante.	· Cribado en mujeres con mutaciones <i>BRCA</i>. · Evaluación de la respuesta a quimioterapia. · Evaluación de prótesis mamarias.
Tomosíntesis (Mamografía 3D)	· Reduce falsos positivos. · Mejor visualización en mamas densas.	· Mujeres con mamas densas. · Detección temprana en programas de cribado.
Tomografía Axial Computarizada (TAC)	· Imágenes detalladas de tejidos profundos. · Útil para evaluar metástasis. · Rápido y accesible.	· Estudio de extensión en cáncer avanzado. · Evaluación de metástasis pulmonares, hepáticas o óseas.
Tomografía por emisión de positrones (PET-TC)	· Permite evaluar la enfermedad metastásica. · Distingue lesiones activas.	· Estudio de extensión en cáncer avanzado. · Valoración de recurrencia tumoral.

1.5. DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DEL CARCINOMA INVASIVO DE MAMA

El término carcinoma tiene su origen en la palabra griega “*karkinos*” (καρκίνος), que significa cangrejo, debido a la apariencia infiltrante y adherida del tumor a los tejidos adyacentes, similar a las patas de un cangrejo. Sin embargo, en la actualidad, el concepto de carcinoma se emplea específicamente para designar neoplasias de origen epitelial, diferenciándolas de otras neoplasias de distinta estirpe, como los sarcomas o los linfomas.

El diagnóstico del carcinoma invasivo de mama se establece tras una sospecha clínica de cáncer de mama. En función de los hallazgos, se indicará, cuando sea preciso, la realización de una biopsia para disponer de material histológico que permita confirmar el diagnóstico.

El estudio histológico es fundamental para establecer el diagnóstico de carcinoma. Para poder hablar de carcinoma invasivo, es imprescindible demostrar histológicamente que la proliferación epitelial invade el tejido subyacente, lo que permite diferenciarlo de las lesiones proliferativas benignas o del carcinoma *in situ*.

A continuación, se describen las características histológicas, tanto morfológicas como inmunohistoquímicas, más relevantes del carcinoma invasivo de mama.

1.5.1. Subtipos histológicos

Desde el punto de vista histológico, el cáncer de mama presenta una marcada heterogeneidad, lo que influye en muchas ocasiones en su comportamiento clínico. Según la última clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se reconocen diversos subtipos histológicos, entre los que destacan los siguientes:

1.5.1.1. Carcinoma invasivo de tipo no especial (NST “No Special Type”)

Es el subtipo histológico más frecuente, representando aproximadamente el 70–80 % de los casos. Histológicamente muestra una arquitectura heterogénea con

estructuras sólidas, trabeculares, glandulares o tubulares, acompañadas de un estroma desmoplásico de intensidad variable. Su diagnóstico se establece por exclusión, al no presentar un patrón de diferenciación específico. Aproximadamente el 10–20 % de los casos muestran un fenotipo triple negativo (34).

1.5.1.2. Carcinoma lobulillar invasivo

Es el segundo subtipo más frecuente, constituyendo alrededor del 10–15 % de los carcinomas invasivos de mama. Este carcinoma se origina en las células del lobulillo mamario. A diferencia del subtipo NST, las células tumorales tienden a infiltrar de forma más difusa y menos estructurada, frecuentemente adoptando un patrón lineal característico.

En este subtipo es característica la ausencia de expresión de E-cadherina, proteína implicada en la adhesión celular. Pese a ser el segundo subtipo histológico más frecuente, rara vez presenta fenotipo triple negativo (35).

1.5.1.3. Carcinoma medular

Es un subtipo histológico relativamente poco frecuente, que representa aproximadamente el 3–5 % de los carcinomas de mama. Esta neoplasia presenta un patrón histológico característico constituido por células tumorales dispuestas en grandes nidos o masas rodeadas por un estroma con abundante infiltrado linfocítico.

A nivel molecular, estos tumores presentan con frecuencia fenotipo triple negativo, con una prevalencia que oscila entre el 50–80 %. Pese a su clasificación habitual como triple negativo, este subtipo se asocia a un pronóstico relativamente favorable en comparación con otros carcinomas triple negativos (36).

1.5.1.4. Carcinoma tubular

Se caracteriza por la formación de estructuras tubulares bien definidas. Habitualmente presenta un grado histológico bajo y se asocia a un pronóstico favorable (34). Este subtipo histológico, al igual que el lobulillar, raramente presenta fenotipo triple negativo.

1.5.1.5. Carcinoma mucinoso

Se caracteriza histológicamente por la abundante producción de mucina extracelular. Habitualmente presenta bajo grado histológico y, en general, un pronóstico favorable. Rara vez presenta fenotipo triple negativo (37).

1.5.1.6. Carcinoma apocrino

Es un subtipo histológico poco frecuente constituido por células tumorales de citoplasma abundante y aspecto oncocítico, con características similares a las glándulas apocrinas. Estos tumores pueden expresar receptores de andrógenos y GDF15. Con cierta frecuencia este subtipo puede presentar fenotipo triple negativo, especialmente en tumores de alto grado histológico (38).

1.5.1.7. Carcinoma metaplásico

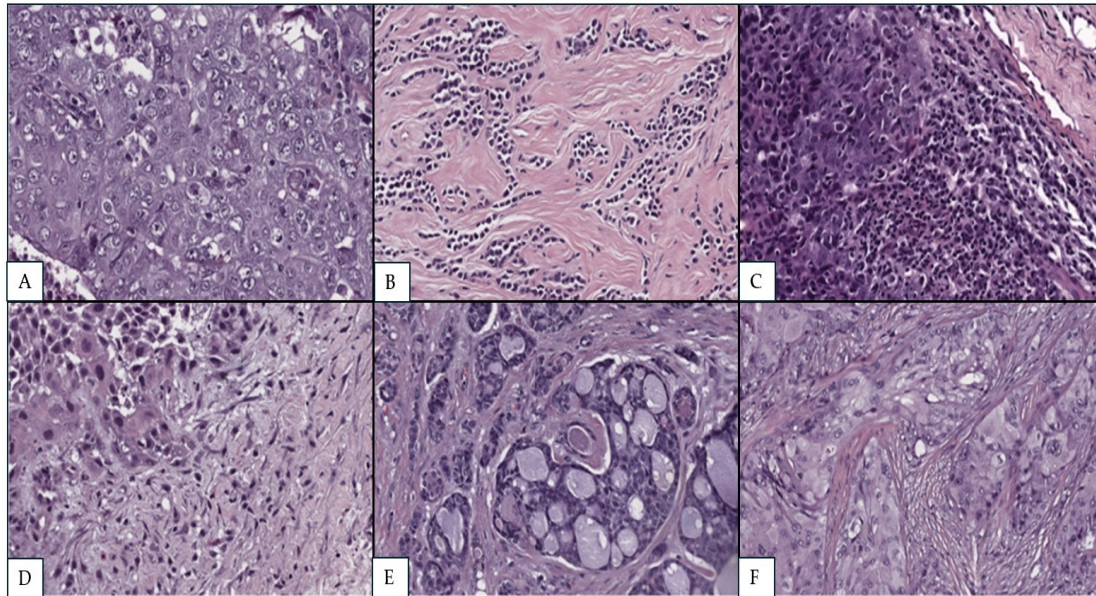
Es un subtipo heterogéneo y poco frecuente que se caracteriza por la presencia de células tumorales con diferenciación no epitelial, como mesenquimatosas, escamosas o cartilaginosas. Debido a esta particularidad, suele requerir técnicas de inmunohistoquímica para confirmar su naturaleza epitelial. Generalmente presenta un pronóstico desfavorable y es habitual que fenotípicamente sea triple negativo en aproximadamente el 30–50 % de los casos (39).

1.5.1.8. Otros subtipos menos frecuentes

Otros subtipos histológicos menos frecuentes, con prevalencias aproximadas del 1–5 %, incluyen el carcinoma papilar, adenoide quístico, inflamatorio, secretor, así como múltiples variantes del carcinoma metaplásico previamente mencionado. Cada uno de ellos presenta características histológicas propias.

A continuación, en la Figura 4 se exponen algunos ejemplos de subtipos histológicos de mama.

Figura 4. Ejemplos de subtipos histológicos de cáncer de mama



A: Carcinoma invasivo de tipo no especial (NST); B: carcinoma lobulillar; C: carcinoma medular; D: carcinoma metaplásico; E: carcinoma adenoide quístico; F: carcinoma apocrino. Figura de elaboración propia a partir de ejemplos de casos de la cohorte.

1.5.2. Grado histológico

El grado histológico de una neoplasia hace alusión al grado de diferenciación celular y a su semejanza con las células mamarias normales. Esta evaluación permite predecir el comportamiento y pronóstico tumoral, y, como se describirá posteriormente, constituye uno de los parámetros de estadificación pronóstica.

Su clasificación se realiza habitualmente mediante el sistema Scarff-Bloom-Richardson (SBR) (40), también conocido como sistema Nottingham (41), que evalúa tres características: la diferenciación o formación de estructuras tubulares, el grado de atipia nuclear y el número de mitosis. Con estos parámetros se determina, en función de la puntuación obtenida, el grado de diferenciación tumoral. Estos criterios se exponen a continuación en la Tabla 4.

Tabla 4. Grado de diferenciación histológica del cáncer de mama.

Parámetro evaluado	Puntuación	Descripción
Formación de estructuras tubulares	1	>75% de las células tumorales forman estructuras tubulares bien diferenciadas.
	2	10-75% de las células forman estructuras tubulares.
	3	<10% de las células forman estructuras tubulares.
Grado de atipia (pleomorfismo celular)	1	Células tumorales ligeramente atípicas, con núcleos similares a las células normales.
	2	Las células tumorales presentan atipia moderada, con núcleos de tamaños y formas variables, cromatina dispersa y nucléolos más prominentes.
	3	Las células tumorales presentan atipia marcada, núcleos irregulares en tamaño y forma, cromatina gruesa, nucléolos grandes y prominentes con marcada heterogeneidad.
Número de mitosis (por 10 campos de gran aumento) *	1	0-4 mitosis.
	2	5-9 mitosis.
	3	10 o más mitosis.
*Referenciado para un microscopio con un diámetro de ocular de 23 mm.		
Grado histológico	Puntuaciones	Descripción
Grado 1 (G1)	3, 4 ó 5	Tumores bien diferenciados
Grado 2 (G2)	6 ó 7	Tumores moderadamente diferenciados
Grado 3 (G3)	8 ó 9	Tumores escasamente diferenciados

1.5.3. Tamaño tumoral

El tamaño tumoral mide el diámetro del tumor en su mayor extensión y es un factor pronóstico clave para su posterior clasificación y estadiaje. Es relevante para definir un tratamiento específico, ya que neoplasias de mayor tamaño pueden requerir tratamientos más agresivos incluso en ausencia de afectación ganglionar (42).

1.5.4. Diseminación linfática: invasión linfovascular, afectación ganglionar y extensión extracapsular

La invasión linfovascular es la presencia de células tumorales dentro de los vasos linfáticos o sanguíneos del tejido mamario. Es un indicador de diseminación tumoral y se asocia con un mayor riesgo de metástasis en ganglios linfáticos y órganos a distancia. Su detección histológica es relevante en la evaluación pronóstica.

La invasión ganglionar se refiere a la presencia de metástasis tumorales en los ganglios linfáticos regionales. Para hablar de metástasis ganglionar propiamente dicha, se precisan depósitos tumorales mayores de 2 mm. En caso de depósitos tumorales de menor tamaño hablaríamos de células tumorales aisladas o micrometástasis ($\leq 0,2$ mm o entre 0,2 y 2 mm respectivamente), que presentan menor impacto pronóstico que la metástasis ganglionar propiamente dicha o macrometástasis (43).

La extensión extracapsular linfática ocurre cuando las células tumorales sobrepasan la cápsula del ganglio linfático e infiltran los tejidos perilinfáticos. Se asocia con peor pronóstico y mayor riesgo de recurrencia locorregional y de metástasis a distancia.

1.5.5. Otros parámetros histológicos de interés

Entre los parámetros de interés que se pueden evaluar histológicamente, se incluyen la invasión perineural, el estado de los márgenes quirúrgicos, la presencia de necrosis tumoral, el grado de heterogeneidad tumoral, la reacción desmoplásica del tejido, el patrón de crecimiento, la presencia de

microcalcificaciones previamente detectadas en las pruebas de imagen y la asociación con lesiones precursoras como la hiperplasia ductal atípica o el carcinoma *in situ* (DCIS).

1.6. INMUNOHISTOQUÍMICA EN EL CÁNCER DE MAMA

Dentro del análisis histopatológico, la inmunohistoquímica es una pieza clave para la determinación de la expresión proteica tumoral. Permite detectar la expresión y localización de proteínas en los tejidos. Si bien no mide directamente la actividad genética o epigenética, puede reflejar alteraciones en dichos niveles, dado que la expresión proteica se encuentra regulada tanto por la transcripción genética como por mecanismos epigenéticos.

La inmunohistoquímica puede considerarse una aproximación accesible a la expresión genética en la práctica clínica debido a su bajo coste y mayor disponibilidad, permitiendo inferir la expresión de ciertos genes a través de sus productos proteicos y evaluar así marcadores pronósticos y predictivos (44).

Existe un consenso entre la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) y la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) que proporciona recomendaciones detalladas acerca de la evaluación de estos biomarcadores (45). A continuación, se exponen aquellos de mayor relevancia.

1.6.1. Receptores hormonales (RH)

La evaluación de los receptores hormonales (RH) es imprescindible para el diagnóstico, la clasificación y el tratamiento del cáncer de mama. La positividad de dichos receptores está asociada con un mejor pronóstico y mayor respuesta a terapias hormonales (46).

- **Receptor de estrógeno (RE):** Se considera positivo cuando al menos el 1% de las células tumorales presentan tinción nuclear. La positividad permite administrar terapia hormonal con inhibidores de la aromatasa y moduladores selectivos del receptor de estrógeno, como el tamoxifeno.
- **Receptor de progesterona (RP):** Al igual que en el caso anterior, se considera positivo cuando al menos el 1% de las células tumorales

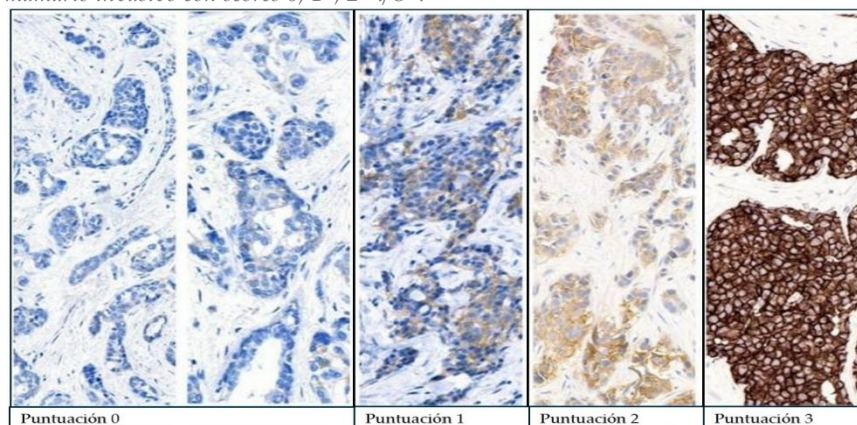
presentan tinción nuclear. Su presencia es menos predictiva que la de los RE, pero la coexpresión de ambos se asocia con mejor pronóstico y mayor respuesta a la terapia hormonal (47).

1.6.2. HER2

HER2 es el producto de la expresión del gen *ERBB2*. Se evalúa de forma habitual mediante técnicas de inmunohistoquímica salvo en casos de difícil interpretación que requieren estudio mediante técnicas de hibridación *in situ* (ISH) (48). Se evalúa en función de la intensidad de la tinción y del porcentaje de células tumorales teñidas (Figura 5):

- **0:** Resultado negativo. Sin reactividad o con reactividad de membrana incompleta en menos del 10% de las células tumorales
- **1+:** Resultado negativo. Reactividad de membrana incompleta y débil en más del 10% de las células tumorales.
- **2+:** Resultado equívoco, requiere estudio mediante ISH y se clasificará en función del resultado de esta técnica. Reactividad de membrana completa débil o moderada en más del 10% de las células tumorales, o intensa en menos del 10% de las células
- **3+:** Resultado positivo. Reactividad completa e intensa de la membrana en más del 10% de las células tumorales.

Figura 5. Patrones histológicos representativos de tinción IHQ para HER2 en carcinoma mamario invasivo con scores 0, 1+, 2+ y 3+.



Adaptado de: Sajjadi E et al.. Pathological identification of HER2-low breast cancer: Tips, tricks, and troubleshooting for the optimal test. *Front Mol Biosci.* 2023;10:1176309 (129)

1.6.3. Ki-67

Es una proteína nuclear asociada a la proliferación celular, su expresión se utiliza como marcador para evaluar la actividad proliferativa tumoral.

Por consenso se ha considerado un valor de Ki-67 mayor del 20% como elevado y asociado a un alto índice proliferativo y mayor agresividad tumoral (45). Sin embargo, el punto de corte puede variar en función de la literatura.

1.6.4. p53

La mutación de p53 se considera relevante dado que su sobreexpresión se asocia con peor pronóstico (45). Sin embargo, el punto de corte para su consideración como positivo no está estandarizado en la literatura.

En el consenso previamente mencionado se define una expresión nuclear difusa mayor del 10% como expresión elevada. La sobreexpresión de p53 es común en tumores de alto grado, triple negativos y HER2 positivos.

1.6.5. BCL2

BCL2 es una proteína antiapoptótica que regula la supervivencia celular. Su expresión es más común en tumores de bajo grado, especialmente en los subtipos luminales A y se asocia con buen pronóstico (49). Se considera BCL2 positivo, según la mayoría de los estudios, cuando $\geq 10\%$ de células tumorales están teñidas, aunque existe heterogeneidad en la literatura.

1.6.6. CK19

La citoqueratina 19 (CK19) es una citoqueratina de bajo peso molecular que se encuentra en el epitelio de los ductos y lóbulos de la mama. La importancia de CK19 está vinculada a la técnica OSNA (One-Step Nucleic Acid Amplification) (50) (técnica del ganglio centinela), que permite la detección de metástasis en los ganglios linfáticos. Se considera que el tumor es CK19 positivo cuando más del 10% de las células tumorales expresan esta proteína.

1.7. ESTADIFICACIÓN DEL CÁNCER DE MAMA

La estadificación y clasificación del tumor primario de mama, ganglios linfáticos asociados y metástasis (TNM) de la American Joint Committee on Cancer (AJCC) (43), proporciona flexibilidad y reproducibilidad para el cáncer de mama, por lo que sigue siendo referente mundial para su estadiaje. Es el método internacional más utilizado para estadificar los tumores sólidos y actualmente se encuentra su octava edición.

El acrónimo TNM se basa en lo siguiente: T (tumor) describe el tamaño del tumor primario y su extensión; N ("nodes", ganglios linfáticos) indica el número de ganglios linfáticos afectados; M (metástasis) señala la presencia o ausencia de metástasis a distancia.

El sistema TNM comprende dos métodos de clasificación distintos: la clasificación clínica y la patológica. La clasificación clínica se establece con la información obtenida por medio de la exploración física y las pruebas complementarias realizadas, principalmente pruebas de imagen. La clasificación patológica se obtiene a través del examen histológico de los especímenes remitidos para análisis. Estos hallazgos patológicos pueden modificar los previamente descritos en la clasificación clínica.

A continuación, se exponen los distintos apartados de la clasificación TNM: una clasificación común para T (Tabla 5), las clasificaciones N clínica y patológica (Tablas 6 y 7) y la clasificación M (Tabla 8).

Tabla 5. Clasificación T del sistema TNM de cáncer de mama

Tumor primario (T) clínico y patológico (cT y pT)	
Tx	Tumor primario no valorable
T0	Sin evidencia de tumor primario
Tis (DCIS)*	Carcinoma ductal <i>in situ</i>
Tis (Paget)	Enfermedad de Paget del pezón NO asociada con carcinoma infiltrante o carcinoma <i>in situ</i> (DCIS) en el parénquima mamario subyacente.
T1	Tumor ≤ 20 mm en su mayor dimensión
T1mi	Tumor ≤ 1 mm en su mayor dimensión
T1a	Tumor > 1 mm, pero ≤ 5 mm en su mayor dimensión
T1b	Tumor > 5 mm, pero ≤ 10 mm en su mayor dimensión
T1c	Tumor > 10 mm, pero ≤ 20 mm en su mayor dimensión
T2	Tumor > 20 mm, pero ≤ 50 mm en su mayor dimensión
T3	Tumor > 50 mm en su mayor dimensión
T4	Tumor de cualquier tamaño con extensión a la pared torácica o a la piel (ulceración o nódulos macroscópicos); la invasión exclusiva de la dermis no se clasifica como T4
T4a	Extensión a la pared torácica; la invasión o adherencia de los músculos pectorales, en ausencia de invasión de las estructuras de la pared torácica, no se clasifica como T4
T4b	Ulceración y/o nódulos satélites macroscópicos ipsilaterales y/o edema cutáneo (incluyendo “piel de naranja”). Estos hallazgos no constituyen criterios de carcinoma inflamatorio de mama.
T4c	Coexistencia de T4a y T4b
T4d	Carcinoma inflamatorio
*El carcinoma lobulillar <i>in situ</i> (LCIS) se considera entidad no maligna y se ha eliminado de esta clasificación de la AJCC	

Tabla 6. Clasificación N clínica del sistema TNM de cáncer de mama.

Ganglios linfáticos regionales (N), clasificación clínica (cN)	
cNx	El estado de los ganglios linfáticos regionales no puede ser determinado
cN0	Sin hallazgos de metástasis en ganglios linfáticos regionales (mediante exploración clínica o pruebas de imagen)
cN1	Metástasis en ganglios linfáticos regionales ipsilaterales móviles (niveles I y II).
cN1mi	Micrometástasis (aproximadamente 200 células; agregados mayores de 0,2 mm pero menores de 2,0 mm)
cN2	Metástasis en ganglios linfáticos regionales, clínicamente adheridos o unidos entre sí (niveles I y II), o metástasis ipsilaterales en la cadena mamaria interna en ausencia de afectación axilar
cN2a	Metástasis en ganglios linfáticos axilares (niveles I y II) adheridos entre sí o a otras estructuras, no móviles
cN2b	Metástasis ganglionar exclusiva en la cadena mamaria interna, en ausencia de metástasis en ganglios axilares.
cN3	Metástasis ipsilaterales infraclaviculares (nivel III) con o sin afectación de los niveles axilares I y II; o afectación de ganglios linfáticos de mamaria interna junto a afectación de ganglios linfáticos axilares (niveles I y II); o metástasis ganglionares supraclaviculares, independientemente del estado del resto de ganglios ipsilaterales
cN3a	Metástasis ipsilateral en ganglios linfáticos infraclaviculares
cN3b	Metástasis ganglionar en cadena mamaria interna y ganglios axilares ipsilaterales
cN3c	Metástasis supraclavicular ipsilateral

Tabla 7. Clasificación N patológica del sistema TNM de cáncer de mama.

Ganglios linfáticos regionales (N), clasificación patológica (pN)	
pNx	No se puede determinar el estado de los ganglios linfáticos
pN0	Sin metástasis en ganglios linfáticos regionales
pN0(i+)	Exclusivamente ITCs (agregados menores de 0,2 mm)
pN0(mol+)	Resultados positivos de patología molecular por reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa sin ITCs
pN1	Micrometástasis o metástasis de 1 a 3 ganglios linfáticos axilares y/o mamaria interna micrometástasis mediante centinela
pN1mi	Micrometástasis (aproximadamente 200 células; agregados mayores de 0,2 mm pero menores de 2,0 mm)
pN1a	Metástasis de 1 a 3 ganglios linfáticos axilares, con al menos una mayor de 2,0 mm
pN1b	Metástasis en ganglios linfáticos centinela de la cadena mamaria interna ipsilateral, excluyendo ITCs
pN1c	Presencia simultánea de pN1a y pN1b
pN2	Metástasis de 4 a 9 ganglios linfáticos axilares o positividad en pruebas de imagen en ganglios de la cadena mamaria interna
pN2a	Metástasis de 4 a 9 ganglios linfáticos axilares (al menos una mayor de 2,0 mm)
pN2b	Metástasis clínica en cadena mamaria interna ipsilateral, con ganglios linfáticos axilares negativos patológicamente
pN3	Metástasis en 10 o más ganglios axilares, o infraclaviculares o de mamaria interna por imagen junto a axilares positivos, o más de tres axilares junto a micro/macrometástasis por centinela de mamaria interna negativos clínicamente
pN3a	Metástasis en 10 o más ganglios linfáticos axilares o metástasis en ganglio linfático infraclavicular (nivel III)
pN3b	pN1a o pN2a en presencia de cN2b, o pN2a junto con pN1b
pN3c	Metástasis en ganglios supraclaviculares ipsilaterales

Tabla 8. Clasificación M del sistema TNM de cáncer de mama.

Metástasis a distancia (M) clínica y patológica (cM y pM)	
M0	Sin evidencia clínica o radiológica de metástasis a distancia (no precisa pruebas de imagen)
cM0(i+)	Sin evidencia clínica o radiológica de metástasis a distancia en presencia de células tumorales aisladas o agregados menores de 0,2 mm, detectados microscópicamente o por técnicas de patología molecular en sangre periférica, médula ósea u otro tejido que no sea ganglio linfático en un paciente sin signos ni síntomas de metástasis
M1	Metástasis a distancia detectada por medios clínicos o radiológicos y/o metástasis probada histológicamente mayor de 0,2 mm (pM1)

De esta clasificación TNM de la AJCC se derivan otras dos clasificaciones o sistemas de estadiaje: uno anatómico y otro pronóstico. Este último estadiaje, el pronóstico, ha sido incluido en esta edición de la AJCC y tiene en cuenta la expresión molecular de la neoplasia para su clasificación, concretamente el grado de diferenciación tumoral (véase sección “Parámetros histológicos”) y la expresión de receptores de estrógenos, progesterona y HER2.

Desde esta asociación se recomienda utilizar preferentemente la clasificación de estadiaje pronóstico, puesto que refleja mejor la naturaleza biológica de la neoplasia, reservando el estadiaje anatómico para aquellos casos en los que no sea posible disponer de forma rutinaria de la evaluación de estos biomarcadores.

Se presentan a continuación ambas clasificaciones: la Tabla 9 muestra los estadios anatómicos, mientras que la Tabla 10 resume los estadios pronósticos específicos para el TNBC.

Tabla 9. Estadío anatómico del cáncer de mama según AJCC (8.ª edición).

Grupos de estadios anatómicos de la AJCC			
Cuando T es...	y N es...	y M es...	El estadio es...
Tis	N0	M0	0
T1	N0	M0	IA
T0	N1mi	M0	IB
T1	N1mi	M0	IB
T0	N1	M0	IIA
T1	N1	M0	IIA
T2	N0	M0	IIA
T2	N1	M0	IIB
T3	N0	M0	IIB
T0	N2	M0	IIIA
T1	N1	M0	IIIA
T2	N2	M0	IIIA
T3	N1	M0	IIIA
T3	N2	M0	IIIA
T4	N0	M0	IIIB
T4	N1	M0	IIIB
T4	N2	M0	IIIB
Cualquiera	N3	M0	IIIC
Cualquiera	Cualquiera	M1	IV

Tabla 10. Resumen de estadios pronósticos de AJCC para TNBC.

Grupos de estadios pronósticos de la AJCC carcinoma infiltrante de mama triple Negativo (HER2 negativo, RE negativo, RP negativo)*				
T es...	N es...	M es...	G es...	Estadio
T1	N0	M0	Cualquier	IIA
T0-1	N1mi	M0	Cualquier	IIA
T0-1	N1	M0	1	IIB
T2	N0	M0	1	IIB
T0-1	N1	M0	2-3	IIIA
T2	N0	M0	2-3	IIIA
T2	N1	M0	1-2	IIIB
T3	N0	M0	1-2	IIIB
T2	N1	M0	3	IIIC
T3	N0	M0	3	IIIC
T0-2	N2	M0	2-3	IIIC
T3	N1-2	M0	2-3	IIIC
T4	N0-2	M0	Cualquier	IIIC
Cualquier	N3	M0	Cualquier	IIIC
Cualquier	Cualquier	M1	Cualquier	IIIC

**T, N y M corresponden a apartados de clasificación pTNM de la AJCC (8ª Edición). G corresponde a grado histológico.*

Con esta nueva clasificación se realiza un estadiaje más adaptado a las características individuales de la neoplasia, lo que permite personalizar los tratamientos en función tanto de la clasificación TNM como de variables histológicas, resaltando la relevancia de los hallazgos histológicos en el estadiaje pronóstico.

Cabe destacar que, según la clasificación de estadios pronósticos, la primera aparición del TNBC (HER2 negativo, receptores de estrógeno y progesterona negativos) en términos de TNM, correspondiente a T1N0M0, ya se considera estadio IIA. Por lo tanto, con este enfoque, el TNBC nunca se clasifica como estadio pronóstico I.

Al analizar la tabla, se observa que no se define un grado de clasificación para dos combinaciones hipotéticas: T0-2 N2 M0 con grado histológico 1 y T3 N1-2 M0 con grado histológico 1. Sin embargo, estas situaciones, aunque posibles, son altamente improbables, dado que el TNBC raramente presenta grado histológico 1 (51).

1.8. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DEL CÁNCER DE MAMA

El tratamiento quirúrgico del carcinoma infiltrante de mama constituye la base de su tratamiento. Dentro de las técnicas quirúrgicas, se abordan distintas estrategias de resección tumoral en función de las características de la neoplasia y del paciente. Estas pueden dividirse en procedimientos conservadores y mastectomías, junto con las distintas técnicas de abordaje axilar.

1.8.1. Cirugía conservadora de mama

La cirugía conservadora tiene como objetivo extirpación del tumor con márgenes libres de enfermedad, preservando la mayor cantidad de tejido mamario sano.

Este enfoque se recomienda en pacientes con tumores pequeños con relación al resto del parénquima mamario y localizados. Habitualmente la cirugía se complementa con tratamiento radioterápico para reducir el riesgo de recidiva local (52). Las principales técnicas quirúrgicas empleadas son:

- **Tumorectomía:** se extirpa la neoplasia y un margen de seguridad de tejido sano circundante.
- **Cuadrantectomía:** se reseca un cuadrante completo de la mama, que incluye el tumor y una porción más amplia de tejido.

1.8.2. Mastectomía

En los casos en los que no es posible realizar una cirugía conservadora (multifocalidad, escaso parénquima mamario remanente u otras contraindicaciones), se recurre a la mastectomía. Dentro de la misma existen diferentes técnicas:

- **Mastectomía simple o total:** extirpación de tejido mamario sin disección axilar.
- **Mastectomía radical modificada:** se extirpa el tejido mamario junto con la resección del tejido ganglionar axilar.
- **Mastectomía radical de Halsted:** exéresis de mama junto con músculos pectorales y el contenido axilar. Esta técnica ha caído en desuso debido a su mayor morbilidad y no demostrar mejores resultados que la mastectomía radical modificada.

En la actualidad, las técnicas de mastectomía presentan múltiples variantes, destacan las que incluyen preservación de piel y de complejo areola-pezón.

1.8.3. Abordaje quirúrgico axilar

El estado ganglionar axilar es un factor pronóstico clave en el cáncer de mama, cuya técnica quirúrgica es la linfadenectomía axilar. Para reducir la morbilidad de la linfadenectomía axilar, se ha desarrollado la técnica del ganglio centinela.

- **Ganglio centinela:** técnica que permite identificar el primer ganglio al que drena el tumor mediante la inyección de un radiofármaco o colorante. En su análisis intraoperatorio, una de las técnicas más empleadas es OSNA, basada en la detección de ARN mensajero de CK19, marcador de células epiteliales. OSNA permite una detección rápida y cuantitativa de metástasis ganglionar (50). Si el estudio intraoperatorio o posterior del ganglio centinela es negativo, se evita la linfadenectomía axilar. En el caso de que la técnica del ganglio centinela demuestre afectación significativa, exista contraindicación para la técnica o se conozca metástasis previa axilar, la técnica quirúrgica a realizar es la linfadenectomía axilar.

- **Linfadenectomía axilar:** consiste en la resección de los ganglios linfáticos de los niveles I y II, ocasionalmente también el III. Su uso ha disminuido con el empleo de la técnica del ganglio centinela (53). Sin embargo, permite conocer con exactitud desde el punto de vista histopatológico el grado de afectación axilar. Este procedimiento se asocia con una mayor morbilidad con posibilidad de padecer linfedema en extremidad superior, disfunciones motoras de hombro y alteraciones sensitivas.

1.9. TRATAMIENTO ONCOLÓGICO DEL CÁNCER DE MAMA

El tratamiento sistémico del cáncer de mama incluye la hormonoterapia, la quimioterapia, terapias dirigidas e inmunoterapia, administradas en función de las características del tumor y del paciente. En función del momento de administración de los tratamientos, se clasifica en neoadyuvante y adyuvante.

- **Tratamiento neoadyuvante:** administrado antes de la cirugía con el objetivo de reducir el tamaño tumoral, facilitar la cirugía conservadora y evaluar la respuesta terapéutica sobre el tejido. Se indica principalmente en tumores localmente avanzados, TNBC o HER2 positivo en estadios iniciales con alto riesgo de recaída, así como en tumores grandes en relación con la mama para permitir cirugía conservadora. La quimioterapia neoadyuvante permite valorar la respuesta histológica.
- **Tratamiento adyuvante:** se administra tras la cirugía con el fin de evitar recurrencias y eliminar posibles restos tumorales. Su indicación depende de varios factores como la afectación ganglionar, la presencia de tejido tumoral tras neoadyuvancia y el subtipo molecular.

Se exponen las distintas familias de fármacos empleados en el tratamiento del cáncer de mama.

1.9.1. Hormonoterapia

Indicada en tumores con expresión de receptores hormonales (luminal A y B), bloquea la señalización estrogénica para prevenir crecimiento tumoral y reducir riesgo de recaída (53). Se administra habitualmente en la fase adyuvante, tras la cirugía. Se dividen en:

- **Moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERM):** principalmente en mujeres premenopáusicas. Ejemplo: tamoxifeno.
- **Inhibidores de la aromatasa:** indicados en mujeres postmenopáusicas, reducen la conversión periférica de andrógenos en estrógenos. Ejemplo: letrozol.
- **Análogos de la GnRH:** inducen supresión ovárica inhibiendo el eje hipofisario; se emplean en pacientes de alto riesgo junto a SERM o inhibidores de la aromatasa.

1.9.2. Quimioterapia

Fármacos de acción no selectiva que afectan a todas las células de rápida proliferación. Se utilizan en neoadyuvancia y adyuvancia, según características tumorales y del paciente:

- **Taxanos:** estabilizan microtúbulos, bloqueando la mitosis; usados en la mayoría de los esquemas de cáncer de mama (54).
- **Antraciclinas:** interfieren con la replicación del ADN e inducen estrés oxidativo; frecuentemente combinadas en esquemas luminales y TNBC (55).
- **Platinos:** forman enlaces cruzados en ADN, impidiendo replicación y transcripción; empleados sobre todo en TNBC y HER2 positivo avanzado o en neoadyuvancia (56).

1.9.3. Terapias dirigidas

Actúan sobre moléculas específicas implicadas en crecimiento y supervivencia tumoral, con menor efecto sobre células sanas. Se emplean

principalmente en tumores HER2 positivos o con alteraciones moleculares concretas:

- **Inhibidores de HER2:** ejemplo trastuzumab; bloquean la señal de proliferación en células HER2 positivas. Se administran junto a quimioterapia o hormonoterapia, tanto en neoadyuvancia como en adyuvancia (57).
- **Inhibidores de CDK4/6:** bloquean la progresión del ciclo celular; ejemplo palbociclib. Indicados en cáncer de mama avanzado o metastásico HER2 negativo con receptores hormonales positivos (58).
- **Inhibidores de PARP:** impiden la reparación de ADN en células con mutaciones *BRCA1/2*, promoviendo apoptosis; ejemplo olaparib. Indicados en tumores *BRCA*-mutados (59).

1.9.4. Inmunoterapia

Actúa activando el sistema inmune contra las células tumorales. Se utilizan en el tratamiento del TNBC. Dentro de ellos destaca el pembrolizumab (anti-PD-1) por su papel tanto en neoadyuvancia como en adyuvancia y atezolizumab (anti-PD-L1) por su uso en estadios avanzados.

Estos fármacos precisan para su indicación de confirmar histológicamente la expresión tumoral de PD-L1 mediante el CPS (Combined Positive Score) (60).

1.10. RESPUESTA HISTOLÓGICA TRAS NEOADYUVANCIA

Uno de los objetivos clave del tratamiento quimioterápico neoadyuvante es evaluar la respuesta histológica al mismo, lo que implica la evaluación de la cantidad de tumor residual.

La respuesta histológica se clasifica en función de la cantidad de tejido tumoral en el parénquima mamario y en los ganglios linfáticos. Existen múltiples escalas con este propósito, entre las que destacan la clasificación de Miller y Payne (61), que categoriza la respuesta en cinco grados y el sistema RCB (Residual Cancer Burden) (62) que calcula la carga tumoral residual teniendo en cuenta parámetros similares (Tabla 11).

Las categorías de respuesta histológica son:

- **Respuesta completa (RCB-0/pCR):** Ausencia de enfermedad residual en tejido mamario y en ganglios linfáticos. Se asocia con mejor pronóstico y menor riesgo de recaída.
- **Respuesta parcial (RCB-I/RCB-II):** Reducción significativa de la carga tumoral, pero persiste a nivel histológico. El pronóstico es intermedio entre la respuesta completa y la ausencia de respuesta.
- **Respuesta nula/ausente (RCB-III):** No se observa reducción significativa de la carga tumoral tras el tratamiento neoadyuvante. Generalmente implica mal pronóstico y mayor riesgo de recurrencia.

Tabla 11. Correlación aproximada entre la escala de Miller y Payne y la clasificación RCB.

Miller & Payne	Descripción	Correspondencia con RCB
Grado 1	No reducción significativa de células	RCB-III
Grado 2	Reducción menor al 30%	RCB-III
Grado 3	Reducción del 30–90%	RCB-II
Grado 4	Reducción >90%, células tumorales residuales dispersas	RCB-I–II
Grado 5	Ausencia de tumor residual (respuesta patológica completa, pCR)	RCB-0 (y parte de RCB-I)

1.11. LA MOLÉCULA DE FASCINA

1.11.1. Estructura de la fascina

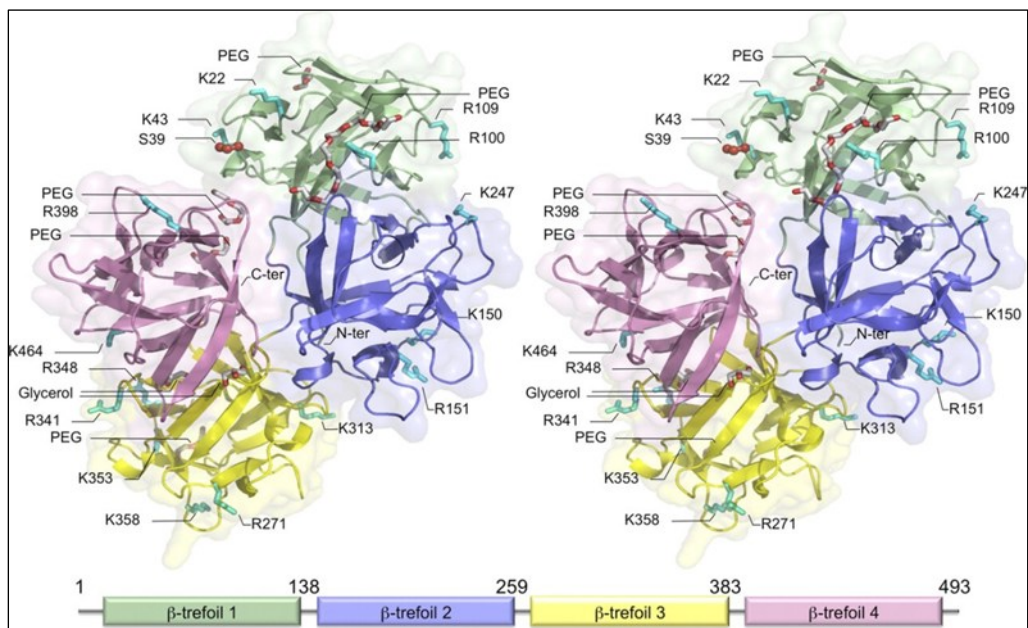
La fascina es una proteína monomérica codificada por el gen *FSCN1* localizado en el cromosoma 7. Se trata de una proteína intracelular de aproximadamente 55 kDa constituida por cuatro dominios β -trefoil que se organizan en dos lóbulos: el lóbulo 1 (que incluye los dominios F1 y F2) y el lóbulo 2 (dominios F3 y F4). Ambos lóbulos se disponen con una simetría

CAPÍTULO I – INTRODUCCIÓN

aproximada de tipo pseudo-2, lo que permite que cada uno presente ejes internos de simetría pseudo-2 y pseudo-3. Esta disposición estructural favorece la formación de bucles candidatos a la unión con la actina (63).

La fascina tiene dos puntos principales de unión a la molécula de actina, localizados en los dominios β -trefoil 1 y 3. Estos sitios están relacionados por la simetría referida de tipo pseudo-2, con una distancia de aproximadamente 5nm entre ellos. Las mutaciones en estas áreas afectan marcadamente la formación de haces de actina, lo que pone de manifiesto su importancia funcional (64).

Figura 6. Estructura cristalográfica de fascina con los cuatro dominios β -trefoil coloreados



Reproducido de Jansen S, Collins A, Yang C, Rebowksi G, Svitkina T, Dominguez R. Mechanism of actin filament bundling by fascin. *J Biol Chem.* 2011;286(34):30087-30096. doi:10.1074/jbc.M111.251439.(130)

1.11.2. Función fisiológica

La fascina pertenece a la familia de proteínas del citoesqueleto celular y su función principal consiste en organizar los filamentos de actina en haces compactos y paralelos. Este proceso resulta clave en la formación y estructuración de los filopodios, estructuras implicadas en la motilidad celular (65).

La fascina constituye la proteína de agrupamiento de actina más importante en los filopodios, los cuales generan protrusiones celulares necesarias para el desplazamiento celular. A través de estas estructuras, la célula lleva a cabo procesos de migración, adhesión y remodelado de membrana en respuesta a estímulos externos (66).

En condiciones fisiológicas, la expresión de fascina se limita a determinados tipos celulares, como las células dendríticas, endoteliales y neuronales, donde participa en procesos de migración celular y reparación tisular (67).

1.11.3. Funciones no canónicas e implicaciones clínicas

La fascina es una proteína que desempeña un papel causal en el potencial invasivo y metastásico de los tumores donde se expresa, asociándose además con resistencia a quimioterapia y evasión de la respuesta inmune (68).

Se ha demostrado que la fascina es una proteína clave en el fenotipo invasivo y metastásico debido a su capacidad para formar haces de actina y a su sobreexpresión en tumores de peor pronóstico, entre ellos el TNBC (69). Estudios previos han demostrado que la fascina incrementa significativamente la migración celular al potenciar la motilidad direccional de las células (70).

Además de su expresión en células tumorales, se ha identificado la expresión de fascina en diversos componentes del microambiente tumoral, como fibroblastos y células dendríticas, donde puede modular la interacción entre el sistema inmune y la neoplasia, favoreciendo la evasión inmunológica (71). A su vez, la sobreexpresión de fascina está regulada por factores implicados en la transición epitelio-mesénquima (TEM), como Slug/Snail y STAT3 (72,73).

El papel causal de la fascina en la progresión tumoral y su sobreexpresión en aproximadamente el 87,8 % de los TNBC han abierto la posibilidad de desarrollar estrategias terapéuticas dirigidas contra esta proteína. Además, la

CAPÍTULO I – INTRODUCCIÓN

fascina también está implicada en la resistencia a la quimioterapia en cáncer de mama (74) y presenta un sitio de unión a tubulina (75). Por ejemplo, la pérdida de la expresión de fascina resensibiliza a las células MDA-MB-231, células de TNBC, al tratamiento con doxorubicina, mientras que la expresión artificial de fascina en líneas de cáncer T47-D (Luminal A/B) o SK-BR-3 (sobreexpresión HER2), que no expresan fascina, confiere quimiorresistencia. La quimiorresistencia en las células positivas a fascina se ha relacionado con la vía de PI3K/Akt (74), Notch e ITGB1 (76) y está relacionada su capacidad para inducir la autorrenovación de las células madre tumorales.

Asimismo, se ha descrito que la expresión de fascina en células de carcinoma hepatocelular (77) y en células de adenocarcinoma de pulmón resistentes al docetaxel (78) también aumenta la quimiorresistencia. En estas células, la fascina regula la quimiorresistencia a través de la vía de transición epitelio-mesénquima (77,78). Estudios recientes han mostrado además que la fascina potencia la resistencia al paclitaxel mediante la regulación del miRNA miR-24-3p en células de cáncer de próstata resistentes a este taxano (79,80).

Dado que la fascina está implicada en la resistencia a la quimioterapia en células tumorales, los inhibidores de fascina se han propuesto como agentes antitumorales potencialmente sinérgicos (70). Recientemente, Wang et al. describieron por primera vez el efecto sinérgico entre el inhibidor de fascina NP-G2-044 y un inhibidor de punto de control inmunitario (ICI) dirigido contra PD-1.

El grupo investigador liderado por el Dr. Pablo Conesa Zamora ha estado caracterizando, durante los últimos cinco años, los efectos antitumorales de nuevos fármacos anti-fascina; algunos de ellos reposicionados, como el antidepresivo imipramina y el antirretroviral raltegravir, y otros compuestos nuevos como el monastrol. Este grupo ha patentado los dos primeros fármacos y actualmente está llevando a cabo un ensayo clínico no comercial (ICI20/00044) para evaluar la utilidad de la imipramina en distintos tumores, incluido el TNBC (81,82).

1.12. MICROAMBIENTE TUMORAL

El microambiente tumoral es un ecosistema complejo en el que se integran las células tumorales, células del sistema inmune, fibroblastos, matriz extracelular y vasos sanguíneos que interactúan entre sí e influyen en la progresión del cáncer.

A continuación, se exponen las características más relevantes de estos componentes.

1.12.1. Células del sistema inmune

- **Linfocitos T:** constituyen uno de los principales efectores de la respuesta inmune antitumoral. Los linfocitos T citotóxicos (CD8+) reconocen y destruyen células tumorales mediante la liberación de gránulos citotóxicos. Por su parte, los linfocitos T colaboradores (CD4+) regulan la respuesta inmune promoviendo la activación de otras células inmunitarias. Sin embargo, cuando se diferencian hacia linfocitos T reguladores (Tregs), en parte a través de la vía PD-1/PD-L1, adquieren una función inmunosupresora que favorece la evasión inmune tumoral (83).
- **Linfocitos B:** tienen un papel menos relevante que los linfocitos T en el microambiente tumoral. Pueden contribuir a la respuesta antitumoral mediante la producción de anticuerpos frente a antígenos tumorales, aunque también pueden favorecer la progresión tumoral al secretar factores que modulan la respuesta inmune (84).
- **Macrófagos:** derivados de monocitos, poseen capacidad fagocítica frente a patógenos, partículas extrañas y células dañadas. Según las señales del microambiente, pueden diferenciarse en distintos fenotipos. Los macrófagos M1, inducidos por citocinas proinflamatorias como IFN- γ , presentan actividad antitumoral mediante la secreción de citocinas, la inducción de apoptosis y la activación de linfocitos T. Por el contrario, los macrófagos M2, promovidos por IL-4 e IL-10, secretan factores angiogénicos y metaloproteasas que favorecen la progresión tumoral (85).

- **Células Natural Killer (NK):** participan en la respuesta inmunitaria innata frente al cáncer. Son capaces de reconocer y eliminar células tumorales sin sensibilización previa mediante la liberación de perforinas y granzimas. Además, secretan citocinas como IFN- γ , que contribuyen a la activación de otras células inmunitarias.
- **Células dendríticas:** son células presentadoras de antígeno responsables de activar linfocitos T y generar una respuesta inmune específica. En el microambiente tumoral suelen presentar alteraciones funcionales que limitan la eficacia de la respuesta inmunitaria.

1.12.2. Células del estroma peritumoral

- **Fibroblastos y miofibroblastos asociados al cáncer (CAFs):** constituyen un componente fundamental del microambiente tumoral. Se trata de células mesenquimales que pueden originarse a partir de fibroblastos circundantes, células madre mesenquimales o células derivadas del estroma vascular. Su función principal es remodelar la matriz extracelular, influyendo en la invasión tumoral y en el desarrollo de metástasis.

Además, los CAFs secretan factores de crecimiento, citocinas y enzimas proteolíticas que favorecen la transición epitelio-mesénquima (TEM), la generación de un microambiente hipóxico y acidótico, la modulación de la respuesta inmune —mediante la influencia sobre los linfocitos T reguladores— y la angiogénesis (86). Estas características los convierten en potenciales dianas terapéuticas en el desarrollo de nuevos fármacos (87).

Los CAFs constituyen una población celular heterogénea, dentro de la cual se ha descrito una subpoblación con fenotipo miofibroblástico caracterizada por la expresión de marcadores contráctiles y por su participación en la remodelación mecánica del estroma tumoral (88).

- **Células endoteliales y pericitos:** son componentes relevantes en la angiogénesis tumoral. Las células endoteliales recubren la luz de los

vasos sanguíneos, mientras que los pericitos, localizados en la pared vascular, regulan la permeabilidad y estabilidad de los vasos. Estos procesos se encuentran mediados por factores angiogénicos como el VEGF (89).

1.12.3. Matriz extracelular (MEC) y transición epitelio-mesénquima (TEM)

La MEC está constituida por proteínas estructurales como el colágeno, la fibronectina y diversos proteoglicanos. Proporciona soporte estructural al tejido y actúa como reservorio de señales que regulan la motilidad, proliferación y diferenciación celular, así como la respuesta inmunológica, mediante su interacción con receptores de superficie como las integrinas. Su composición y rigidez pueden modular respuestas epigenéticas y mecánicas en las células circundantes y, cuando se altera, condiciona el comportamiento tumoral (90).

En el caso del microambiente tumoral, la MEC suele estar remodelada por los CAF, células inmunes, proteasas y otras señales tumorales que aumentan la rigidez peritumoral y la acumulación de colágeno. Se crea de esta forma un clima protumoral que favorece la angiogénesis e impide la respuesta inmune eficaz, potencia la invasión tisular y dificulta la respuesta a los tratamientos(91).

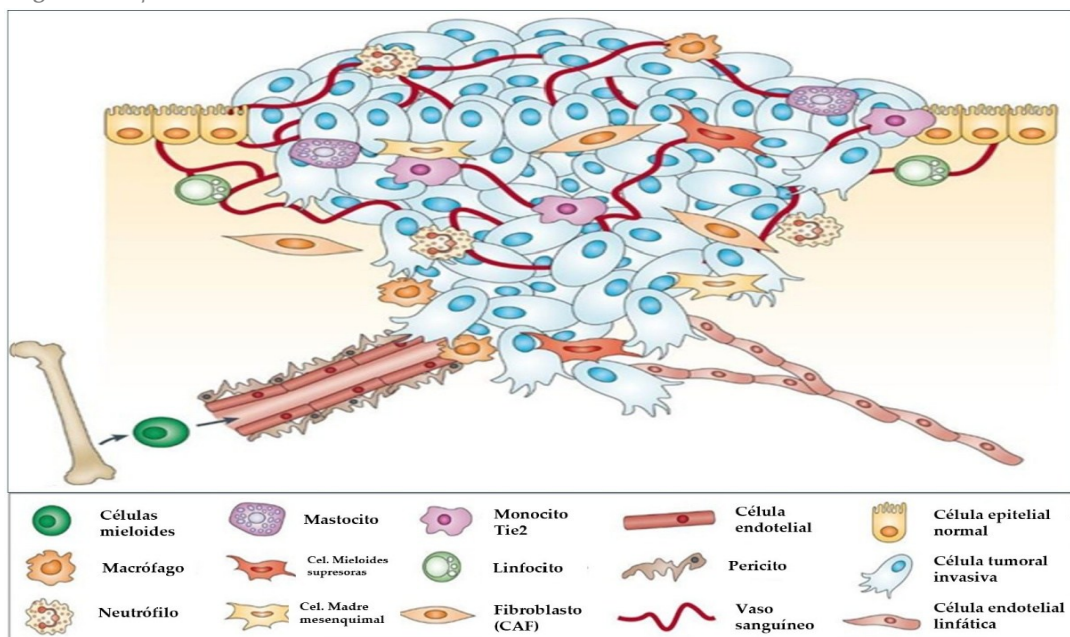
Durante el proceso de TEM, las células tumorales, pierden sus características epiteliales y adquieren un fenotipo más mesenquimal que facilita la invasión tisular y su migración por la matriz extracelular (92). Este proceso está mediado por metaloproteasas de matriz (MMPs) y otras enzimas que permiten la degradación de la matriz extracelular (93). Este proceso fisiológico en el desarrollo embrionario se activa de manera aberrante en carcinomas y está estrechamente involucrado en la progresión tumoral, la invasión local y la metástasis (94).

En el caso del cáncer de mama, la remodelación de la MEC desempeña un papel central en la progresión tumoral. Se ha descrito un aumento de la rigidez del estroma mamario asociado a la reorganización y alineación de las fibras de colágeno, lo que favorece la activación de vías de señalización dependientes de integrinas y quinasas. Estos cambios pueden preceder a la invasión tumoral y se han relacionado con peor pronóstico.

Además, la interacción entre células tumorales mamarias y CAF contribuye a un microambiente rico en señales inductoras de TEM, particularmente relevante en subtipos como el TNBC, donde la plasticidad células y la TEM se asocian a mayor agresividad biológica y resistencia terapéutica (95,96) .

A continuación, se muestra la Figura 7, que esquematiza la interacción entre los distintos componentes del microambiente tumoral.

Figura 7. Esquema del microambiente tumoral.



Muestra la interacción entre células cancerosas, MEC, CAFs y células del sistema inmune. Adaptado de Joyce & Pollard, Nat Rev Cancer, 2009;9(4):239-252 (131)

II – JUSTIFICACIÓN

II. JUSTIFICACIÓN

El TNBC tiende a presentarse en mujeres más jóvenes y presenta una tasa de mortalidad más elevada, alcanzando aproximadamente el 40 % en estadios avanzados durante los primeros cinco años tras el diagnóstico. Históricamente, las opciones terapéuticas para este subtipo han sido más limitadas en comparación con otros tipos de cáncer de mama. Aunque la quimioterapia continúa siendo el pilar fundamental del tratamiento, en los últimos años se ha producido un avance notable con la incorporación de nuevos agentes biológicos y terapias dirigidas.

La caracterización del perfil molecular específico del tumor, que incluye la determinación de PD-L1 y del receptor de andrógenos, está ampliando progresivamente las opciones terapéuticas disponibles en la práctica clínica. Asimismo, el TNBC se caracteriza por una elevada expresión de fascina, una proteína implicada en el potencial invasivo y metastásico de los tumores en los que se expresa, y que además se ha asociado con resistencia a la quimioterapia y con mecanismos de evasión de la respuesta inmune.

En la actualidad, el TNBC continúa considerándose un subtipo de mal pronóstico y con opciones terapéuticas limitadas, en parte debido a la ausencia de dianas moleculares claramente definidas. En los últimos años, los esfuerzos terapéuticos se han orientado hacia la inmunoterapia, especialmente mediante el uso de pembrolizumab (97).

El efecto antitumoral de la imipramina frente a células de TNBC ha sido previamente observado *in vitro* y en modelos preclínicos, particularmente en relación con el protooncogén FoxM1 (98). Sin embargo, su relación con la molécula de fascina en el cáncer de mama aún no ha sido completamente

definida. Por otra parte, el papel de la fascina en las células del microambiente tumoral ha sido escasamente estudiado. Existen trabajos que describen su función en células dendríticas (71) , pero su posible papel en otras células relevantes del estroma tumoral, como los fibroblastos asociados al cáncer (CAFs), permanece poco caracterizado, a pesar de que la expresión de diversas moléculas en estas células se ha relacionado con factores pronósticos (99–102).

Con este trabajo pretendemos definir el papel biológico de la fascina en el TNBC y su microambiente tumoral. Además pretendemos caracterizar y comprender mediante transcriptómica cómo responden las células de TNBC (y lumbinales como modelo comparativo) frente a imipramina.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

La expresión de *FSCN1* en el TNBC se asocia con características clínico-patológicas de mayor agresividad y peor evolución clínica, tanto a nivel de las células tumorales como del microambiente tumoral. Asimismo, la modulación farmacológica de *FSCN1* mediante imipramina induce cambios moleculares y funcionales que afectan a la viabilidad y capacidad migratoria celular, apoyando su potencial como diana terapéutica en este subtipo tumoral.

III – OBJETIVOS

III. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVOS PRINCIPALES

- Correlacionar la expresión inmunohistoquímica de fascina en una cohorte de pacientes con TNBC en tejido parafinado con el comportamiento clínico del tumor, con el fin de valorar su posible valor diagnóstico, pronóstico y predictivo.
- Caracterizar los mecanismos moleculares asociados al tratamiento con imipramina como agente anti-fascina *in vitro* en líneas celulares de cáncer de mama.

3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Comparar la expresión inmunohistoquímica de fascina encontrada en la biopsia diagnóstica con la pieza quirúrgica posterior al tratamiento neoadyuvante.
- Evaluar la expresión de fascina en células de microambiente tumoral y su posible asociación con parámetros clínico-patológicos.
- Analizar los cambios en la expresión de fascina y sus funciones asociadas producidos por el tratamiento con fármacos anti-fascina en el contexto de líneas celulares comerciales de cáncer de mama.

IV - MATERIAL Y MÉTODO

IV -MATERIAL Y MÉTODO

Este trabajo se ha desarrollado desde un doble enfoque. Por una parte, un estudio retrospectivo, basado en la revisión sistemática de los casos diagnosticados de TNBC en los últimos años en el Área 2 de Salud de la Región de Murcia, caracterizando parámetros histológicos tumorales, evolución clínica y pronóstico de los pacientes, junto con la determinación de fascia en material biológico parafinado.

Por otra parte, se llevó a cabo una aproximación prospectiva de carácter experimental, que incluyó ensayos *in vitro* con líneas celulares humanas comerciales de cáncer de mama, con el objetivo de analizar su comportamiento biológico e intentar correlacionar los resultados obtenidos con la información clínica recogida en el apartado anterior.

4.1. SELECCIÓN DE PACIENTES Y MUESTRAS

Se realizó una revisión sistemática de los casos de TNBC diagnosticados entre los años 2010 y 2022 en el Área 2 de Salud de la Región de Murcia, caracterizando parámetros histológicos tumorales y curso clínico de pacientes afectos junto con determinación de fascia en material biológico parafinado de cara a establecer una correlación clínica entre estas variables. Se estudiaron las muestras histológicas al diagnóstico y en posteriores muestras remitidas a nuestro servicio ya sea con fines diagnósticos o terapéuticos. Las muestras diagnósticas remitidas al servicio de Anatomía Patológica podían corresponder a biopsias dirigidas obtenidas mediante punción con aguja gruesa (BAG), biopsia asistida por vacío (BAV), pieza quirúrgica o hallazgo histológico incidental en especímenes remitidos por otros motivos. Las muestras posteriores del mismo paciente podían corresponder con tumorectomías con fines terapéuticos o a biopsias realizadas para establecer correcto estadio oncológico.

No se establecieron criterios de exclusión específicos, únicamente aquellos casos sin biopsias registradas o aquellos casos diagnosticados fuera del período indicado no fueron seleccionados para el estudio.

Las variables biológicas, oncológicas y pronósticas fueron extraídas del sistema de historias clínicas electrónicas CGM SELENE (CompuGroup Medical 2020). Las variables oncológicas fueron clasificadas de acuerdo con la octava edición del sistema de estadiaje de la AJCC (43). Los estadiajes realizados con anterioridad a esta edición fueron reclasificados conforme a la clasificación pronóstica de la octava edición, siempre que los datos disponibles lo permitieran.

Los parámetros histológicos tumorales se recogieron mediante la información almacenada en la herramienta informática del servicio de Anatomía Patológica PAT-Win. (Dedalus, 1997-2024) Se utilizaron como criterios de búsqueda las determinaciones de inmunohistoquímica realizadas en tejido mamario durante el período de estudio. Se caracterizaron además otros parámetros de filiación histológica y relevancia pronóstica, incluyendo la determinación de HER2 (30), Ki67 (103), p53 (17) y BCL2 (49).

En relación con la respuesta histológica al tratamiento, se recogieron de PAT-Win los datos correspondientes al TNM (AJCC) y los grados de Miller y Payne (43,61) En caso ausencia de información de alguna de estas variables, estas fueron reevaluadas por un patólogo con experiencia en patología mamaria mediante revisión de las muestras disponibles y de los informes anatomopatológicos.

Los datos de determinación de HER2 se realizaron conforme a la práctica clínica habitual y siguiendo los criterios estandarizados vigentes para su interpretación en cáncer de mama, basados en la intensidad y el patrón de tinción membranosa mediante inmunohistoquímica, con confirmación mediante técnicas de hibridación *in situ* en los casos indicados.

Para el resto de los biomarcadores, la valoración se efectuó mediante estimación del porcentaje de células tumorales con tinción positiva, estableciéndose puntos de corte previamente definidos en base a la literatura disponible y a criterios metodológicos del estudio.

Para Ki-67 se emplearon dos puntos de corte (≥ 30 % y ≥ 70 %). El umbral del 30 % se seleccionó por su uso frecuente en la literatura como indicador de alta proliferación en cáncer de mama, mientras que el punto de corte del 70 % se estableció con carácter exploratorio, con el objetivo de identificar subgrupos con

muy alta actividad proliferativa, dada la ausencia de consenso universal sobre un único valor óptimo en TNBC.

Para p53 se consideró expresión positiva cuando ≥ 25 % de las células tumorales mostraban tinción nuclear. En el caso de BCL2, se estableció positividad con una expresión ≥ 10 %. Para CK19, se consideró expresión positiva cuando ≥ 30 % de las células tumorales presentaban tinción citoplasmática. Todos los biomarcadores fueron analizados como variables dicotómicas (positivo/negativo) en función de los puntos de corte establecidos.

4.2. CONSTRUCCIÓN DE MICROMATRICES DE TEJIDO

Las micromatrices de tejido parafinado (TMAs, “tissue microarrays”) constituyen un método eficiente para el análisis simultáneo de múltiples muestras tisulares, permitiendo mejorar la representatividad de los tejidos analizados y aumentar la reproducibilidad de los ensayos.

Para su elaboración, el material tisular fue fijado en formaldehído y posteriormente incluido en parafina. Se utilizaron portaobjetos histológicos teñidos con hematoxilina-eosina para identificar las áreas más representativas del tejido. Tras esta evaluación, se señalaron las áreas de interés y se posicionaron los punzones mediante los mandos de ajuste XY del dispositivo, lo que garantizó la correcta localización de cada muestra y la precisión del muestreo. Durante el proceso se excluyeron sistemáticamente aquellas áreas que presentaban cambios reactivos u otros artefactos que pudieran interferir en la evaluación inmunohistoquímica.

Las áreas seleccionadas se extrajeron en forma de núcleos tisulares de 2 mm de diámetro, que se ensamblaron en un único bloque de parafina. Se mantuvo una distancia de 2 mm entre núcleos, permitiendo incluir 16 muestras por TMA, con un margen de 1 mm entre el borde del bloque de parafina y el primer punto de punción. Cada orificio se perforó a una profundidad aproximada de 5 mm, insertándose el punzón lo más profundamente posible en el bloque. A lo largo del proceso, se mantuvo una plantilla detallada para registrar la ubicación de cada muestra dentro del TMA, lo que garantizó la trazabilidad y la organización adecuada de las muestras.

4.3. ANÁLISIS DE FASCINA EN TEJIDO PARAFINADO

La evaluación inmunohistoquímica de la expresión de fascina se realizó tomando como referencia los trabajos publicados por el grupo del Dr. Pablo Conesa (104,105), así como estudios previos de Abbasi, Gomaa y Yamada (106–108). Los TMAs fueron teñidos para fascina utilizando el anticuerpo recombinante de conejo anti-fascina (clon EP5902, Abcam®, Cambridge, Reino Unido; Cat. N° ab126772), diseñado exclusivamente para su uso en investigación y revelados mediante el kit de detección ultraView Universal DAB (Ventana-Roche®, Cat. N° 760-500).

Los tejidos se procesaron con 36 minutos de recuperación de antígenos (pH = 9), seguidos de 32 minutos de incubación con anticuerpo anti-fascina recombinante (EP5902).

Las evaluaciones inmunohistoquímicas fueron realizadas de forma independiente por dos patólogos, uno de ellos con experiencia en la evaluación de la expresión de fascina en patología tumoral. Ambos observadores desconocían las características clínicas de los casos analizados.

Las variables registradas incluyeron el porcentaje y la intensidad de la expresión de fascina en las células tumorales y el porcentaje en las células del estroma peritumoral. Los vasos de los tejidos analizados sirvieron como controles positivos (tinción intensa).

Para las células tumorales, la evaluación se realizó mediante escalas ordinales para porcentaje de tinción (“<1%”, “1–50%”, “>50–75%” y “>75%”) e intensidad (“nula”, “débil”, “moderada” e “intensa”). En el caso de los fibroblastos peritumorales, la evaluación se realizó únicamente en función del porcentaje de tinción (“0–33%”, “>33–66%” y “>66%”).

Para el análisis estadístico, estas categorías se transformaron en valores numéricos manteniendo su naturaleza ordinal. En células tumorales, tanto el porcentaje como la intensidad se codificaron de 0 a 3, mientras que en fibroblastos peritumorales se empleó una codificación de 1 a 3 (Tablas 12 y 13).

Para los análisis posteriores, los resultados se simplificaron en variables dicotómicas. En células tumorales se consideró expresión positiva cualquier intensidad o porcentaje de tinción distinto de nulo (106,107). En fibroblastos peritumorales, se consideró expresión positiva a partir del rango >33–66%,

mientras que el rango 0–33% se interpretó como negativo. Este punto de corte se estableció para minimizar el efecto de la tinción de fondo y mejorar la concordancia interobservador (108–110).

Tabla 12. Evaluación de fascina en células tumorales

Evaluación de porcentaje			Evaluación intensidad		
Porcentaje	Resultado	Valor	Intensidad	Resultado	Valor
<1%	Negativo	0	Nula	Negativo	0
1-50%	Positivo	1	Débil	Positivo	1
>50-75%	Positivo	2	Moderada	Positivo	2
>75%	Positivo	3	Intenso	Positivo	3

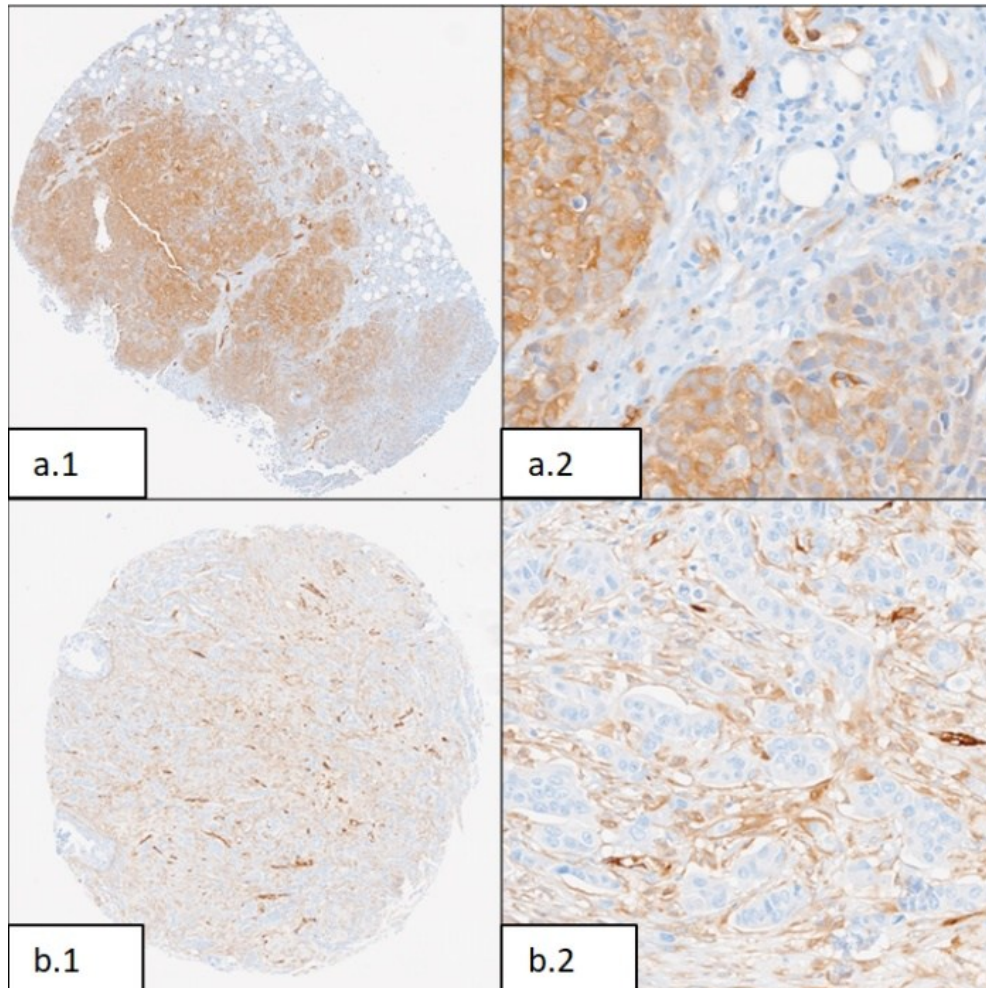
Tabla 13. Evaluación de fascina en miofibroblastos

Porcentaje	Resultado	Valor
0-33%	Negativo	1
>33-66%	Positivo	2
>66%	Positivo	3

En caso de existir diferentes evaluaciones dentro de una misma muestra histológica, se considerará, para cada variable, el valor más alto. Asimismo, en caso de discrepancia interobservador, se seleccionará el valor superior siempre que la diferencia no exceda una unidad en la escala numérica. Si la discrepancia fuera superior a una unidad, el caso se someterá a revisión conjunta para alcanzar un consenso, registrándose el valor finalmente acordado. Cuando ambos observadores asignen valores negativos y el resultado corresponda a 0, este se recodificará como 1, con el fin de evitar saltos en la escala entre los valores 0 y 2.

Podemos observar, a continuación, en la Figura 8 ejemplos representativos de casos en los que la tinción de células tumorales y estromales fue positiva o negativa.

Figura 8. Ejemplos de tinciones para fascina en células tumorales y miofibroblastos.



a. Tinción positiva en células tumorales y negativa en miofibroblastos. b. Tinción negativa para células tumorales y positiva para miofibroblastos. Figura de elaboración propia a partir de casos de la cohorte.

Para determinar las células estromales fascina positivas, morfológicamente compatibles con los miofibroblastos, se realizaron tinciones inmunohistoquímicas adicionales: actina músculo liso (AML) (anticuerpo 1A4, Kit Ultraview DAB Ventana-Roche®, referencia: 760-2833), CD44 (anticuerpo SP37, Ultraview Cell Marque Sigma-Aldrich®, referencia: 144M-98), CD163 (anticuerpo MRQ-26, Kit Ultraview DAB Ventana-Roche®, referencia: 760-4437), CD1a (anticuerpo EP3622 Antibody, Kit Ultraview DAB Ventana-Roche®, referencia: 760-4525)

4.4. LÍNEAS CELULARES: VIABILIDAD, ENSAYOS DE MIGRACIÓN Y EFECTOS DE TRATAMIENTO

Se emplearon dos líneas celulares humanas de cáncer de mama: MDA-MB-231 (modelo de TNBC) y MCF7 (modelo luminal), adquiridas de American Type Culture Collection (ATCC).

Ambas líneas celulares se cultivaron en medio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) alto en glucosa (VWR, ref. 392-0412), suplementado con 10% de suero fetal bovino inactivado por calor (FBS) y 50 µg/ml de gentamicina (Cat#15750037, Thermo Fisher Scientific). Las células se mantuvieron a 37 °C, en una atmósfera humidificada con 5% de CO₂.

Para evaluar los efectos de la imipramina sobre la viabilidad celular se llevaron a cabo ensayos en ambas líneas celulares. En el caso de la línea MDA-MB-231, se sembraron 30.000 células por pocillo, en quintuplicado, en placas de 24 pocillos y se incubaron a 37 °C en una atmósfera humidificada con un 5% de CO₂. Al día siguiente, las células se trataron con imipramina en un rango de concentraciones comprendido entre 0,1 y 1000 µM, previamente diluida en agua libre de nucleasas. Los pocillos control contenían únicamente medio de cultivo y agua libre de nucleasas. Transcurridas 72 horas de tratamiento, la viabilidad celular se determinó mediante el uso del contador automático Countess™ 3 FL (Invitrogen, Cat#AMQAF2000), empleando azul tripán como marcador de exclusión.

Por su parte, la línea MCF7 se sembró igualmente por quintuplicado, a una densidad de 1500 células por pocillo, en placas de 96 pocillos de fondo plano (Nunc, Roskilde, Dinamarca). Las células se incubaron bajo las mismas condiciones y, al día siguiente, se trataron con imipramina en el mismo rango de concentraciones (0,1–1000 µM). Tras 72 horas de exposición, la viabilidad celular se evaluó mediante la adición de 50 µl de solución XTT activada (Biotium, VWR, Catalog#30007) en cada pocillo. Posteriormente, las placas se incubaron a 37 °C durante 4 horas y la absorbancia se midió a 450 nm empleando un lector de placas Spectramax ID3 (Molecular Devices, VWR).

Finalmente, los valores obtenidos se utilizaron para calcular la concentración inhibitoria media (IC_{50}) mediante el software GraphPad Prism (versión 8.0).

La capacidad migratoria celular fue analizada mediante un ensayo de cicatrización (scratch assay), en el que todas las condiciones experimentales fueron evaluadas por triplicado. Se colocaron insertos de cultivo de cuatro compartimentos (Ibidi, Ref: 80469) en placas adherentes de 12 pocillos (VWR, Avantor) y se sembraron 40.000 células por cuadrante. A las 24 horas, una vez que los cuadrantes se encontraban completamente cubiertos por células adheridas, los insertos fueron retirados. Los pocillos se incubaron con su correspondiente medio de cultivo y concentraciones de imipramina. Las dosis de imipramina se seleccionaron en relación con los valores de IC_{50} establecidos previamente para cada línea celular. Se aplicaron concentraciones por debajo y por encima de la IC_{50} para captar los efectos dependientes de la dosis sobre la capacidad migratoria y garantizar la comparabilidad entre modelos con sensibilidades farmacológicas distintas. En la línea celular MDA-MB-231, la imipramina fue evaluada a concentraciones de 10, 20 y 30 μ M. Mientras que en MCF7 se utilizaron concentraciones de 10, 15 y 20 μ M. Estas concentraciones derivan de los resultados obtenidos en el apartado de viabilidad.

En ambos casos se incluyeron controles no tratados como referencia basal. Las imágenes de seis campos dentro del área de la herida fueron capturadas a las 0, 8 y 24 horas tras la administración del tratamiento, utilizando un microscopio invertido con un aumento de 10x. El área no cubierta fue cuantificada mediante el software ImageJ (versión 1.54d).

4.5. RNA-SEQ Y ANÁLISIS DE DATOS

Ambas líneas celulares descritas fueron sembradas en placas de 6 pocillos, a una densidad de 100000 células por pocillo, por sextuplicado, y tratadas con Imipramina a una concentración de 20 μ M para las células MDA-MB-231 y 15 μ M para las células MCF7. Las células fueron recolectadas a las 24, 48 y 72 horas (con y sin tratamiento), utilizando 800 μ L de Trizol™ Reagent (Thermo Fisher Scientific). Se realizaron 5 replicados biológicos en distintos días.

El ARN total fue extraído empleando el kit Direct-zol™ RNA MiniPrep (Zymo Research, Cat# R2050). La secuenciación del ARN fue realizada en el Departamento de Genómica del Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), utilizando la plataforma Illumina NextSeq 2000. Para la preparación de las bibliotecas, se emplearon 1000ng de ARN por muestra, siguiendo las instrucciones del fabricante del kit Illumina Stranded mRNA Prep. El ARNm purificado fue fragmentado y retrotranscrito para generar el cDNA. Los productos generados fueron purificados y amplificados para su posterior secuenciación en la plataforma NextSeq 2000 P3. Los archivos FASTQ generados en dichos experimentos fueron depositados en ArrayExpress a través del número de acceso: E-MTAB-1535)

Los datos de RNA-Seq fueron procesados para cuantificar la abundancia de transcritos utilizando el programa Kallisto que permite una estimación rápida y precisa de los niveles de expresión génica a partir de lecturas de secuenciación (111). Posteriormente, los resultados de cuantificación fueron utilizados para realizar el análisis de expresión diferencial empleando la plataforma Degust, que facilita la visualización y comparación de los perfiles transcriptómicos entre las distintas condiciones experimentales (112).

4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el software SPSS versión 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.). Se emplearon odds ratios (OR) y hazard ratios (HR) para determinar la asociación entre resultados binarios y de tiempo hasta evento (supervivencia) respectivamente. Se emplearon pruebas no paramétricas para toda $n < 30$ en cualquiera de los grupos de estudio como la prueba U de Mann-Whitney para comparar dos grupos experimentales y la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon para comparar las mismas variables en diferentes puntos temporales. Para comparar más de dos grupos experimentales, la prueba de Kruskal-Wallis con corrección de comparaciones múltiples de Dunn. Las proporciones se compararon utilizando la prueba de χ^2 . En el caso de la evaluación de respuesta completa, el análisis fue realizado mediante regresión logística binaria. Para los análisis de supervivencia univariantes se utilizó el método de Kaplan-Meier, y las diferencias entre grupos

se evaluaron en la prueba de log-rank. Los HR y sus intervalos de confianza (IC) del 95% se estimaron utilizando modelos de riesgos proporcionales de Cox univariantes y multivariantes.

Todos los test estadísticos fueron bilaterales y se ha considerado como resultado significativo un valor de $p \leq 0,05$. Para controlar los falsos negativos derivados de comparaciones múltiples, se empleó la tasa de descubrimientos falsos, empleando la herramienta descrita por Menyhart et al. (113) Esta herramienta calcula los valores q ajustados por la tasa de descubrimientos falsos a partir de los valores p bilaterales sin procesar. A menos que se especifique lo contrario, los resultados se consideraron estadísticamente significativos con $q < 0,05$.

Se analizó la asociación de la tinción de fascina con variables clínicas, oncológicas, pronósticas y predictivas tanto en la biopsia inicial como en las muestras quirúrgicas. Sin embargo, su asociación con variables histológicas y moleculares se estudió exclusivamente en la biopsia inicial, ya que las determinaciones inmunohistoquímicas se realizaron en estas muestras.

4.7. CONSIDERACIONES ÉTICAS

La realización del estudio se ha ajustado a lo establecido en la legislación española (Real Decreto 1386/2018, de 19 de noviembre, por el que se modifica el Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación Memoria de solicitud de Proyecto de investigación. En el caso de los pacientes, se han empleado excedentes tisulares procedentes de práctica clínica, garantizando el cumplimiento de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica y la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales, así como el resto de normativa de aplicación. El proyecto ha sido evaluado y aprobado por el Comité de Ética hospitalario del Complejo Hospitalario de Cartagena y de la UCAM.

V – RESULTADOS

V - RESULTADOS

5.1. CARACTERÍSTICAS DE LA COHORTE

5.1.1. Número de casos

La cohorte estuvo constituida por 145 casos de pacientes afectas de TNBC documentada en el informe clínico y anatomopatológico.

5.1.2. Edad, sexo y lateralidad

En relación con la edad de la cohorte, la edad media de la muestra fue de 58,69 años, con una estimación para la población general de 56,12–61,22 años (IC 95 %). La totalidad de los casos correspondió a mujeres (145 casos; 100 %). En cuanto a la lateralidad tumoral, la mayoría de los casos fueron unilaterales (136 casos; 93,8 %), mientras que 9 casos fueron bilaterales (6,2 %).

5.2. NÚMERO DE MUESTRAS Y VARIABLES QUE INFLUYEN EN SU DISTRIBUCIÓN

5.2.1. Número de muestras

En relación con la disponibilidad de muestras tumorales en tejido mamario, se registraron 239 muestras aptas para estudio, de las cuales 139 correspondieron a biopsias iniciales y 100 a muestras procedentes de piezas quirúrgicas. En total, se dispuso de 132 piezas quirúrgicas, si bien en algunas de ellas no fue posible realizar determinaciones debido a la ausencia de tumor residual tras tratamiento neoadyuvante.

Respecto a su distribución, 126 casos disponían tanto de biopsia inicial como de pieza quirúrgica, 13 casos únicamente dispusieron de biopsia inicial y 6 casos exclusivamente de pieza quirúrgica.

De los 126 casos que disponían de ambas muestras, 95 presentaban tumor tanto en la biopsia inicial como en la pieza quirúrgica. De los 6 casos con únicamente pieza quirúrgica, 5 presentaron tumor disponible para su estudio.

En relación con los casos perdidos, las únicas muestras que no pudieron recuperarse correspondieron a 12 biopsias iniciales del subgrupo de pacientes que disponían de biopsia inicial y pieza quirúrgica. No se registraron pérdidas de muestras en los grupos que disponían exclusivamente de biopsia inicial o de pieza quirúrgica.

5.2.2. Administración de tratamiento quimioterápico neoadyuvante

Dado que el tratamiento quimioterápico puede inducir cambios significativos en el tejido tumoral, resulta necesario especificar desde el inicio la distribución de los casos según la administración o no de quimioterapia neoadyuvante. Este factor no influye en los parámetros analizados en la biopsia diagnóstica inicial, los cuales se describen en las secciones correspondientes.

De los 145 casos que constituyen la muestra, 64 pacientes (44,1 %) recibieron tratamiento quimioterápico neoadyuvante, mientras que 81 pacientes (55,9 %) no lo recibieron.

En relación con los distintos fármacos administrados, se recogieron los tratamientos según su familia farmacológica (taxanos, antraciclinas y compuestos de platino), debido a la variabilidad de los esquemas terapéuticos utilizados a lo largo del seguimiento de la cohorte. Dado que una misma paciente podía recibir fármacos de más de una familia, las categorías no fueron mutuamente excluyentes. De las 64 pacientes tratadas con neoadyuvancia, 60 (93,8 %) recibieron taxanos, 60 (93,8 %) antraciclinas y 27 (42,2 %) compuestos de platino.

5.2.3. Tratamiento quirúrgico tumoral y axilar

En relación con el tratamiento quirúrgico, 132 pacientes de la cohorte fueron intervenidas (91,0 %). Este total incluyó 62 pacientes del grupo tratado con neoadyuvancia (96,9 % de este subgrupo) y 70 pacientes del grupo sin neoadyuvancia (86,4 %). Se dispuso de pieza quirúrgica en los casos intervenidos.

CAPÍTULO V – RESULTADOS

En todos los casos sin neoadyuvancia se observó tumor infiltrante en la pieza quirúrgica para su estudio, mientras que en el grupo tratado con neoadyuvancia se dispuso de tumor infiltrante en 30 casos (48,4 % de las pacientes intervenidas tras neoadyuvancia).

En cuanto al abordaje quirúrgico axilar, resulta relevante indicar si la axila fue intervenida mediante linfadenectomía, permitiendo su evaluación histológica completa, o si fue estudiada mediante la técnica del ganglio centinela. Las axilas evaluadas exclusivamente mediante ganglio centinela limitan la valoración histológica completa de las características ganglionares.

En total, 118 casos (89,9 %) presentaron estudio axilar, de los cuales 62 fueron evaluados mediante linfadenectomía. En el grupo de pacientes con neoadyuvancia, 53 casos (85,5 %) presentaron estudio axilar, siendo 36 mediante linfadenectomía. En el grupo sin neoadyuvancia, 65 casos (92,9 %) presentaron estudio axilar, de los cuales 26 fueron evaluados mediante linfadenectomía.

5.3. ALTERACIONES GENÉTICAS GERMINALES

Para el estudio de las alteraciones genéticas germinales en los casos de la cohorte debe considerarse la limitación de que la información genética de las pacientes no se registra de forma sistemática en la historia clínica, debido a su naturaleza sensible y a cuestiones de confidencialidad. En los casos en los que esta información estuvo disponible (n = 13), las mutaciones observadas fueron principalmente en BRCA1, presente en 11 pacientes (84,6 %), seguido de BRCA2 en 1 paciente (7,7 %) y otras mutaciones, como RAD51D, también en 1 paciente (7,7 %).

5.4. VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS Y MOLECULARES

5.4.1. Grado histológico

En relación con el grado histológico de los tumores evaluados (n = 143), se observó que 1 caso correspondía a G1 (0,7 %), 33 casos a G2 (23,2 %) y 108 casos a G3 (76,1 %). En 2 casos no se registró el grado histológico, considerándose como valores perdidos (1,4%).

5.4.2. Subtipo histológico

El subtipo histológico de los tumores evaluados ($n = 145$) mostró que la mayoría correspondía al subtipo no especial (NST), con 133 casos (91,7 %), entre los que se incluyen 17 casos de carcinoma tipo medular, seguido de apocrino en 5 casos (3,4 %), metaplásico en 3 casos (2,1 %) y lobulillar y adenoide quístico, con dos casos cada uno (1,4 %). No se registraron valores perdidos.

5.4.3. HER2

La expresión de HER2 se evaluó mediante inmunohistoquímica, observándose exclusivamente valores negativos, dado que, por definición, el TNBC no presenta sobreexpresión ni amplificación de HER2, tal como se ha expuesto previamente. En la distribución de los resultados, el 51,7 % de los casos mostró un valor "0", el 26,6 % un valor "1+" y el 21,7 % un valor "2+". En 2 casos no se especificó el valor negativo de HER2.

5.4.4. Ki-67, p53, BCL2 y CK19

Se evaluó la expresión de los biomarcadores Ki-67, p53, BCL2 y CK19 empleando los puntos de corte previamente establecidos. Para Ki-67, con un punto de corte ≥ 30 %, el 78,9 % de los casos resultó positivo y el 21,1 % negativo ($n = 142$; 3 valores perdidos), mientras que con un punto de corte ≥ 70 %, el 42,3 % fue positivo y el 57,7 % negativo. La expresión de p53 (≥ 25 %) fue positiva en el 56,2 % de los casos y negativa en el 43,8 % ($n = 137$; 8 valores perdidos). En cuanto a BCL2 (≥ 10 %), el 45,4 % mostró expresión positiva y el 54,6 % negativa ($n = 130$; 15 valores perdidos). Finalmente, CK19 (≥ 30 %) presentó positividad en el 93,1 % de los casos y negatividad en el 6,9 % ($n = 130$; 15 valores perdidos).

CAPÍTULO V – RESULTADOS

5.5. EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE FASCINA EN CÉLULAS TUMORALES

Para el análisis de la expresión inmunohistoquímica de fascina, se diferenció entre la expresión observada en la biopsia inicial y en la pieza quirúrgica, teniendo en cuenta la administración de tratamiento neoadyuvante, y utilizando como punto de corte la presencia de cualquier tinción positiva (Tabla 14).

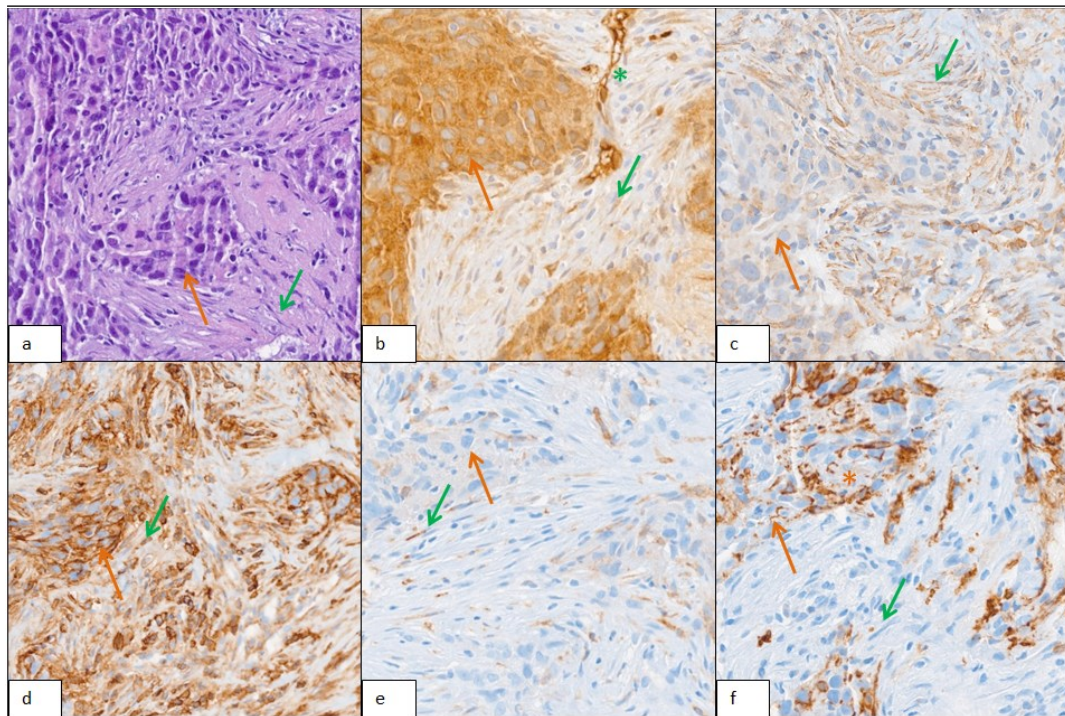
Tabla 14. Expresión de fascina en células tumorales de biopsia inicial y pieza quirúrgica

Fascina en células tumorales	Positivo	Negativo
Biopsia inicial	117 (92,1 %)	10 (7,9 %)
	Total	127
Pieza sin neoadyuvancia	55 (78,6 %)	15 (21,4 %)
	Total	70
Pieza con neoadyuvancia	24 (80,0 %)	6 (20,0 %)
	Total	30

5.6. CARACTERIZACIÓN DE MIOFIBROBLASTOS COMO CÉLULAS QUE EXPRESAN FASCINA

A continuación, se muestran las técnicas de inmunohistoquímica empleadas para la caracterización de las células del estroma peritumoral positivas para fascina. La positividad para actina de músculo liso, CD44 y CD163, junto con la negatividad para CD1a, permitió caracterizar a estas células como miofibroblastos peritumorales (CAFs) (Figura 9)

Figura 9. Tinciones (20x-40x) para caracterización inmunohistoquímica de miofibroblastos.



*Células tumorales con flecha naranja, miofibroblastos con flecha verde. a. Tinción con Hematoxilina eosina. b. Tinción inmunohistoquímica con Fascina (EP5902) *Células endoteliales vasculares. c. Tinción inmunohistoquímica con actina músculo liso (1A4). d. Tinción inmunohistoquímica con CD44 (SP37). e. Tinción inmunohistoquímica con CD163 (MRQ-26). f. Tinción inmunohistoquímica con CD1a (EP3622)*Células CD1a positivas intratumorales. Figura de elaboración propia*

5.7. EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE FASCINA EN CÉLULAS DEL MICROAMBIENTE TUMORAL: MIOFIBROBLASTOS.

Al igual que en el caso de la expresión de fascin en células tumorales, los casos se separaron según correspondieran a biopsia inicial o a pieza quirúrgica, debido a la naturaleza diferente de las muestras y a la posible influencia del tratamiento neoadyuvante (Tabla 15).

Tabla 15. Expresión de fascina en miofibroblastos de biopsia inicial y pieza quirúrgica

Fascina en miofibroblastos	Positivo	Negativo
Biopsia inicial	90 (70,9 %)	37 (29,1 %)
	Total	127
Pieza quirúrgica sin neoadyuvancia	54 (77,1 %)	16 (22,9 %)
	Total	70
Pieza quirúrgica con neoadyuvancia	26 (86,7 %)	4 (13,3 %)
	Total	30

5.8. COMPARACIÓN ENTRE VALORES DE FASCINA EN BIOPSIA INICIAL Y PIEZA QUIRÚRGICA

El objetivo de este apartado es evaluar la posible existencia de cambios en la expresión de fascina, tanto en células tumorales como en miofibroblastos, en función de la administración de tratamiento neoadyuvante, considerando tanto variables cualitativas como cuantitativas (Tabla 16).

En el caso de las células tumorales, el grupo sin tratamiento mostró una mayor consistencia con los resultados de biopsia inicial y pieza quirúrgica, tanto para positividad ($p < 0,001$) como la intensidad ($p < 0,001$), con una menor intensidad en pieza quirúrgica. En contraste, el grupo con tratamiento neoadyuvante únicamente mantuvo asociación entre la intensidad de las muestras ($p = 0,007$), no mostrando significación la relación entre la positividad entre las muestras. Por otra parte, en el caso de los miofibroblastos, la expresión de fascina en biopsia inicial y pieza quirúrgica no mostró asociación significativa en ninguno de los casos, independientemente del grupo de tratamiento y de la evaluación realizada lo que muestra una mayor variabilidad de este tipo celular.

Tabla 16. Cambios en la expresión de fascina entre biopsia inicial y pieza quirúrgica.

Célula evaluada	Neoadyuvancia	Evaluación	Significación
Células tumorales	Sin tratamiento	Positividad	p < 0,001; OR = 42,00 (IC 95 %: 4,38–402,60)
		Intensidad	p < 0,001; OR = 0,666 (IC 95 %: 0,495–0,787)
	Con tratamiento	Positividad	p = 0,19
		Intensidad	p = 0,007; OR = 0,514 (IC 95 %: 0,147–0,757)
Miofibroblastos	Sin tratamiento	Positividad	p = 0,73
		Intensidad	p = 0,250
	Con tratamiento	Positividad	p = 1,0
		Intensidad	p = 0,228

5.9. VARIABLES ONCOLÓGICAS GRUPO SIN NEOADYUVANCIA

Para el análisis de las variables oncológicas resulta necesario separar la cohorte en función de la administración previa de tratamiento neoadyuvante. A continuación, se exponen los resultados correspondientes a los casos que no recibieron tratamiento quimioterápico neoadyuvante.

5.9.1. pTNM

En el grupo sin tratamiento neoadyuvante, el estadio pT según la clasificación pTNM de la AJCC fue pT1 en 34 casos (48,6 %), pT2 en 28 casos (40,0 %), pT3 en 6 casos (8,6 %) y pT4 en 2 casos (2,9 %). En 11 casos no fue posible determinar el estadio pT.

Respecto al estadio pN, 37 casos (57,8 %) fueron pN0, 23 casos (35,9 %) pN1, 3 casos (4,7 %) pN2 y 1 caso (1,6 %) pN3, sin especificación del estadio pN en 17 casos.

5.9.2. Extensión extracapsular ganglionar

Dentro del grupo sin neoadyuvancia, en los casos con estudio axilar mediante linfadenectomía, se observó extensión extracapsular en 7 casos (26,9 %), mientras que en 19 casos (73,1%) no se observó este hallazgo.

5.9.3. Estadío pronóstico inicial

En este apartado se detalla el estadio pronóstico oncológico de los casos sin tratamiento neoadyuvante tras completar estudio anatomopatológico. Se identificaron 30 casos (37,0%) correspondientes a estadio II, 42 casos (51,9 %) al estadio III y 9 casos (11,1 %) al estadio IV

5.9.4. Tratamiento quimioterápico adyuvante

En el subgrupo sin tratamiento neoadyuvante, se expone la administración de tratamiento quimioterápico tras el tratamiento quirúrgico. Un total de 57 casos (70,4 %) recibieron tratamiento adyuvante, mientras que 24 casos (29,6 %) no lo recibieron.

5.9.5. Metástasis extraganglionar a diagnóstico o seguimiento

Se analizó en la cohorte sin neoadyuvancia la presencia de metástasis extraganglionar, tanto al diagnóstico como durante el seguimiento. Se identificaron metástasis extraganglionares en 23 casos (28,4 %), mientras que en 58 casos (71,6 %) no se observó este hallazgo.

5.10. VARIABLES ONCOLÓGICAS GRUPO CON NEOADYUVANCIA

A continuación, se detallan los resultados de las variables oncológicas correspondientes a la cohorte que recibió tratamiento quimioterápico neoadyuvante.

5.10.1. TNM inicial (cTNM)

En el grupo de pacientes que recibió tratamiento quimioterápico neoadyuvante, se realizó una estadificación clínica inicial (cTNM). En cuanto al estadio cT, 6 casos (11,1 %) fueron clasificados como cT1, 30 casos (55,6 %) como cT2, 12 casos (22,2 %) como cT3 y 6 casos (11,1 %) como cT4; en 10 casos no se dispuso de información acerca del estadio cT.

Respecto al estadio cN inicial, 23 casos (50,0 %) fueron cN0, 11 casos (23,9 %) cN1, 6 casos (13,0 %) cN2 y 6 casos (13,0 %) cN3; sin datos disponibles para la clasificación cN en 18 casos.

5.10.2. Estadio pronóstico inicial

Se realizó estadio pronóstico inicial al grupo de pacientes que recibieron tratamiento quimioterápico neoadyuvante. Se identificó estadio II en 1 caso (1,8 %), estadio III en 51 casos (89,5 %) y estadio IV en 5 casos (8,8 %).

5.10.3. TNM tras tratamiento (ypTNM)

Posteriormente, tras tratamiento quimioterápico neoadyuvante y estudio anatomopatológico de la pieza, se evaluó la clasificación ypTNM según la AJCC. En cuanto al estadio ypT, 33 casos 33 (53,2 %) fueron ypT0, 22 casos (35,5 %) ypT1, 2 casos (3,2 %) ypT2, 3 casos (4,8 %) ypT3 y 2 casos (3,2 %) ypT4, sin posibilidad de evaluar el ypT en 2 casos.

Respecto al estadio ypN, 42 casos (73,7 %) fueron ypN0, 9 casos (15,8 %) ypN1, 3 casos (5,3 %) ypN2 y 3 casos (5,3 %) ypN3, sin datos disponibles en 7 casos.

5.10.4. Respuesta completa (ypT0 ypN0/ Miller y Payne Grado 5)

En relación con el apartado anterior, para el análisis posterior de la respuesta histológica tumoral, se realiza esta clasificación. Se evaluaron 62 pacientes con neoadyuvancia, correspondientes al total de 64 pacientes del grupo, ya que 2 no fueron intervenidos quirúrgicamente. De estos 62 pacientes, 30 casos

(48,4 %) presentaron respuesta completa (ypT0 ypN0), frente a 32 casos (51,6 %) que no obtuvieron respuesta completa.

5.10.5. Extensión extracapsular ganglionar

En el grupo de pacientes con neoadyuvancia y estudio anatomopatológico axilar, se evaluó la presencia de extensión tumoral extracapsular. Se identificó extensión extracapsular en 8 casos (22,2 %), mientras que 28 casos (77,8 %) no mostraron este hallazgo.

5.10.6. Tratamiento quimioterápico adyuvante

En el grupo de pacientes que recibieron tratamiento quimioterápico neoadyuvante, se evaluó además la administración de tratamiento quimioterápico adyuvante tras la cirugía. 18 casos (29,5 %) recibieron tratamiento adyuvante, mientras que 43 (70,5 %) no lo recibieron, no se dispuso de información en 3 casos.

5.10.7. Metástasis extraganglionar a diagnóstico o seguimiento

En este apartado se exponen, al igual que se hizo previamente con el otro grupo, la presencia de metástasis extraganglionares en los casos de la cohorte durante bien durante el diagnóstico o durante el seguimiento de las pacientes. Se identificaron metástasis extraganglionares en 15 casos (23,4 %), frente a 49 casos (76,6 %) donde no se evidenció este hallazgo.

5.11. ANÁLISIS DESCRIPTIVO SUPERVIVENCIA

Los datos conjuntos de supervivencia conjunta de la cohorte fueron de 59,5 meses de media; 54 meses de mediana; 1 mes de mínimo y 174 meses de máximo. En el grupo sin neoadyuvancia fueron de 57,3 meses de media; 42 meses de mediana; 1 mes de mínimo y 168 meses de máximo. Por último, en el grupo de neoadyuvancia la mediana fue de 62,4; meses la media de 59,5 meses; 5 meses de mínimo y 174 meses de máximo.

5.12. ASOCIACIÓN DE EXPRESIÓN DE FASCINA (BIOPSIA INICIAL) CON VARIABLES CLÍNICO-PATOLÓGICAS, GERMINALES E INMUNOHISTOQUÍMICAS

En este apartado se presentan los resultados de análisis estadístico de las principales variables clínico-patológicas, genéticas, histológicas e inmunohistoquímicas incluidas en su estudio con la expresión de fascina en células tumorales y miofibroblastos. Se han analizado las variables previamente expuestas de forma descriptiva. De cara al análisis estadístico, las variables fueron agrupadas cuando fue necesario. Los resultados se exponen a continuación en las Tablas 17 y 18.

Tabla 17. Asociación estadística entre expresión de fascina en células tumorales y variables clínico-patológicas, germinales e inmunohistoquímicas

Expresión de fascina en células tumorales		
Variables	Significación	Test FDR (5 %)
Edad	p = 0,354	No significativo
Lateralidad	p = 0,426	No significativo
BRCA1 y no BRCA1	No calculable	No aplica
Grado histológico 3	p = 0,008; OR = 5,340 (IC 95 %: 1,397–20,408)	No significativo
Subtipo histológico NST	p = 0,235	No significativo
Subtipo histológico medular	p = 0,275	No significativo
HER2 valor 0	p = 0,009; OR = 10,167 (IC 95 %: 1,247–82,873)	No significativo
Ki-67 ≥ 30 %	p = 0,023; OR = 4,500 (IC 95 %: 1,124–18,021)	No significativo
Ki-67 ≥ 70 %	p = 0,292	No significativo
p53 ≥ 25 %	p = 0,752	No significativo
BCL2 ≥ 10 %	p = 0,243	No significativo
CK19 ≥ 30 %	p = 0,687	No significativo

Tabla 18. Asociación estadística entre expresión de fascina en miofibroblastos y variables clínico-patológicas, germinales e inmunohistoquímicas.

Expresión de fascina en miofibroblastos		
Variables	Significación	Test FDR (5 %)
Edad	p = 0,111	No significativo
Lateralidad	p = 0,973	No significativo
BRCA1 y no BRCA1	p = 1,00	No significativo
Grado histológico 3	p = 0,022; OR = 0,282 (IC 95 %: 0,091–0,878)	No significativo
Subtipo histológico NST	p = 0,318	No significativo
Subtipo histológico medular	p = 0,020; OR = 3,862 (IC 95 %: 1,236–12,071)	No significativo
HER2 valor 0	p = 0,214	No significativo
Ki-67 ≥ 30 %	p = 0,292	No significativo
Ki-67 ≥ 70 %	p = 0,046; OR = 0,444 (IC 95 %: 0,199–0,993)	No significativo
p53 ≥ 25 %	p = 0,344	No significativo
BCL2 ≥ 10 %	p = 0,031; OR = 0,408 (IC 95 %: 0,178–0,932)	No significativo
CK19 ≥ 30 %	p = 0,674	No significativo

5.13. ASOCIACIONES DE EXPRESIÓN DE FASCINA CON VARIABLES ONCOLÓGICAS EN CASOS SIN NEOADYUVANCIA

En este apartado se analizan las asociaciones entre la expresión de fascina y las distintas variables oncológicas en los casos sin tratamiento quimioterápico neoadyuvante. El análisis se realizó de forma separada en células tumorales y en miofibroblastos, evaluando la expresión tanto en biopsia inicial como en pieza quirúrgica. Los resultados del análisis estadístico, tras corrección por tasa de falsos descubrimientos se presentan a continuación en las Tablas 19 y 20.

Tabla 19. Asociación estadística entre expresión de fascina en células tumorales y variables oncológicas en casos sin neoadyuvancia

Expresión de fascina en células tumorales, casos sin neoadyuvancia			
Tipo biopsia	Variable	Significación	Test FDR (5 %)
Biopsia inicial	≥ pT2	p = 0,285	No significativo
	≥ pN1	p = 0,024; OR = 0,113 (IC 95 %: 0,013–1,007)	No significativo
	Extensión extracapsular ganglionar	p = 0,067	No significativo
	Estadio ≥ III	p = 0,819	No significativo
	Metástasis extraganglionar	p = 0,372	No significativo
Pieza quirúrgica	≥ pT2	p = 0,588	No significativo
	≥ pN1	p = 0,36	No significativo
	Extensión extracapsular ganglionar	p = 0,028; OR = 0,088 (IC 95 %: 0,011–0,717)	No significativo
	Estadio ≥ III	p = 0,841	No significativo
	Metástasis extraganglionar	p = 0,363	No significativo

Tabla 20. Asociación estadística entre expresión de fascina en miofibroblastos y variables oncológicas en casos sin neoadyuvancia.

Expresión de fascina en miofibroblastos, casos sin neoadyuvancia			
Tipo biopsia	Variable	Significación	Test FDR (5 %)
Biopsia inicial	≥ pT2	p = 0,607	No significativo
	≥ pN1	p = 0,200	No significativo
	Extensión extracapsular ganglionar	p = 0,318	No significativo
	Estadio ≥ III	p = 0,927	No significativo
	Metástasis extraganglionar	p = 0,817	No significativo
Pieza quirúrgica	≥ pT2	p = 0,757	No significativo
	≥ pN1	p = 0,161	No significativo
	Extensión extracapsular ganglionar	p = 0,665	No significativo
	Estadio ≥ III	p = 0,769	No significativo
	Metástasis extraganglionar	p = 0,769	No significativo

5.14. ASOCIACIONES DE EXPRESIÓN DE FASCINA CON VARIABLES ONCOLÓGICAS EN CASOS CON NEOADYUVANCIA

En este apartado se analizan las asociaciones entre la expresión de fascina y las distintas variables oncológicas en los casos tratados con quimioterapia neoadyuvante, diferenciando entre células tumorales y miofibroblastos (Tablas 21 y 22). Asimismo, se incluye posteriormente un subapartado específico en el que se evalúa la respuesta patológica completa al tratamiento neoadyuvante.

Tabla 21. Asociación estadística entre expresión de fascina en células tumorales y variables oncológicas en casos con neoadyuvancia

Expresión de fascina en células tumorales, casos con neoadyuvancia			
Tipo biopsia	Variable	Significación	Test FDR (5 %)
Biopsia inicial	≥ ypT1	p = 0,476	No significativo
	≥ ypN1	p = 0,820	No significativo
	Extensión extracapsular ganglionar	p = 0,444	No significativo
	Estadio ≥ III	p = 0,792	No significativo
	Metástasis extraganglionar	p = 0,390	No significativo
Pieza quirúrgica	≥ ypT1	p = 1	No significativo
	≥ ypN1	p = 0,372	No significativo
	Extensión extracapsular ganglionar	p = 0,638	No significativo
	Estadio ≥ III	No calculable	No aplica
	Metástasis extraganglionar	p = 0,363	No significativo

Tabla 22. Asociación estadística entre expresión de fascina en miofibroblastos y variables oncológicas en casos con neoadyuvancia

Expresión de fascina en miofibroblastos, casos con neoadyuvancia			
Tipo biopsia	Variable	Significación	Test FDR (5 %)
Biopsia inicial	≥ ypT1	p = 0,565	No significativo
	≥ ypN1	p = 0,279	No significativo
	Extensión extracapsular ganglionar	p = 0,646	No significativo
	Estadio ≥ III	p = 0,447	No significativo
	Metástasis extraganglionar	p = 0,654	No significativo
Pieza quirúrgica	≥ ypT1	p = 0,252	No significativo
	≥ ypN1	p = 0,583	No significativo
	Extensión extracapsular ganglionar	p = 0,183	No significativo
	Estadio ≥ III	No calculable	No aplica
	Metástasis extraganglionar	p = 0,563	No significativo

5.14.1. Evaluación de respuesta completa (ypT0 ypN0)

Se realizó regresión logística univariante de la respuesta completa al tratamiento neoadyuvante, considerando únicamente los parámetros de biopsia inicial. No se realizó análisis multivariante dado que únicamente la expresión de fascina en miofibroblastos alcanzó significación estadística (Tabla 23).

Tabla 23. Evaluación de respuesta completa (ypT0 ypN0) en grupo de pacientes con tratamiento neoadyuvante.

Variable	N	Perdidos	Significación para respuesta completa
Fascina en células tumorales	51	11	p = 0,494
Fascina en miofibroblastos	51	11	p = 0,022; OR = 4,643 (IC 95 %: 1,250–17,248)
HER2 (valores negativos)	58	4	p = 0,454
HER2 (Valor “0”)	58	4	p = 0,106
Ki-67 ≥ 30 %	60	2	p = 0,173
Ki-67 ≥ 70 %	60	2	p = 0,070
p53 ≥ 25 %	59	3	p = 0,524
BCL2 ≥ 10 %	56	6	p = 0,423
CK19 ≥ 30 %	56	6	p = 0,292
Estadio pronóstico inicial	53	9	p = 0,496

5.15. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA EN CASOS SIN NEOADYUVANCIA

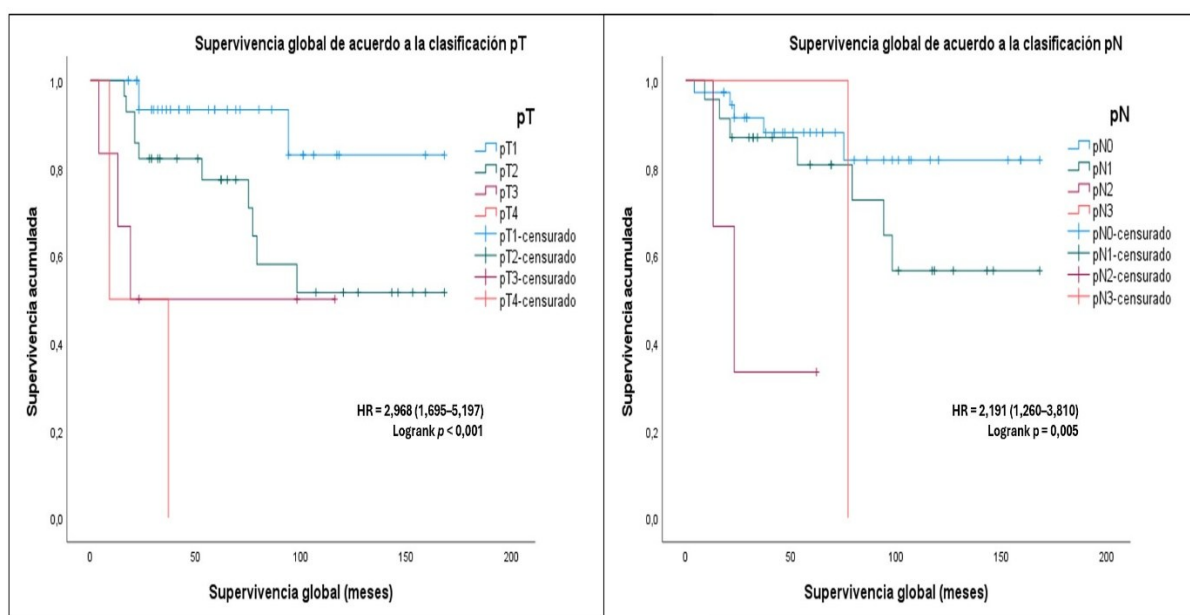
En este apartado se analiza la asociación entre las variables clínicopatológicas e inmunohistoquímicas y la supervivencia global en los casos sin tratamiento neoadyuvante (Tabla 24). Se recogen los valores de significación estadística (log rank) univariante y la correspondiente HR en aquellos con significación (Cox), también se incluye análisis multivariante posterior de las variables que presentaron significación en el análisis univariante.

Tabla 24. Análisis de supervivencia global en casos sin neoadyuvancia

Análisis supervivencia global univariante grupo sin neoadyuvancia			
Variable	N	Perdidos	Significación
Fascina en células tumorales (biopsia inicial)	74	7	p = 0,706
Fascina en miofibroblastos (biopsia inicial)	74	7	p = 0,714
Fascina en células tumorales (pieza quirúrgica)	70	0	p = 0,516
Fascina en miofibroblastos (pieza quirúrgica)	70	0	p = 0,502
Grado histológico elevado (G3)	80	1	p = 0,977
Subtipo NST	81	0	p = 0,719
NST tipo medular	81	0	p = 0,135
Ki-67 $\geq$ 30%	74	7	p = 0,540
Ki-67 $\geq$ 70%	74	7	p = 0,279
p53 $\geq$ 25%	72	9	p = 0,882
HER2 valor "0"	77	4	p = 0,116
BCL2 $\geq$ 10%	70	11	p = 0,105
pT	70	11	p < 0,001; HR=2,968 (IC 95 %: 1,695–5,197)
pN	65	16	p = 0,005; HR=2,191 (IC 95 %: 1,260–3,810)
Análisis supervivencia global multivariante grupo sin neoadyuvancia			
Variable	N	Perdidos	Significación
pT	64	17	p < 0,001; HR=3,638 (IC 95 %: 1,859–7,116)
pN			p = 0,005; HR=2,212 (IC 95 %: 1,268–3,858)

A continuación, se exponen las gráficas de supervivencia global de pT y pN, ambas variables con significación estadística en el análisis univariante (Figura 10).

Figura 10. Gráficas de supervivencia para grupo de pacientes sin neoadyuvancia según pT y pN



Análisis univariante de pT: $p < 0,001$; HR=2,968 (IC 95 %: 1,695-5,197); univariante pN: $p = 0,005$; HR=2,191 (IC 95 %: 1,260-3,810). Elaboración propia

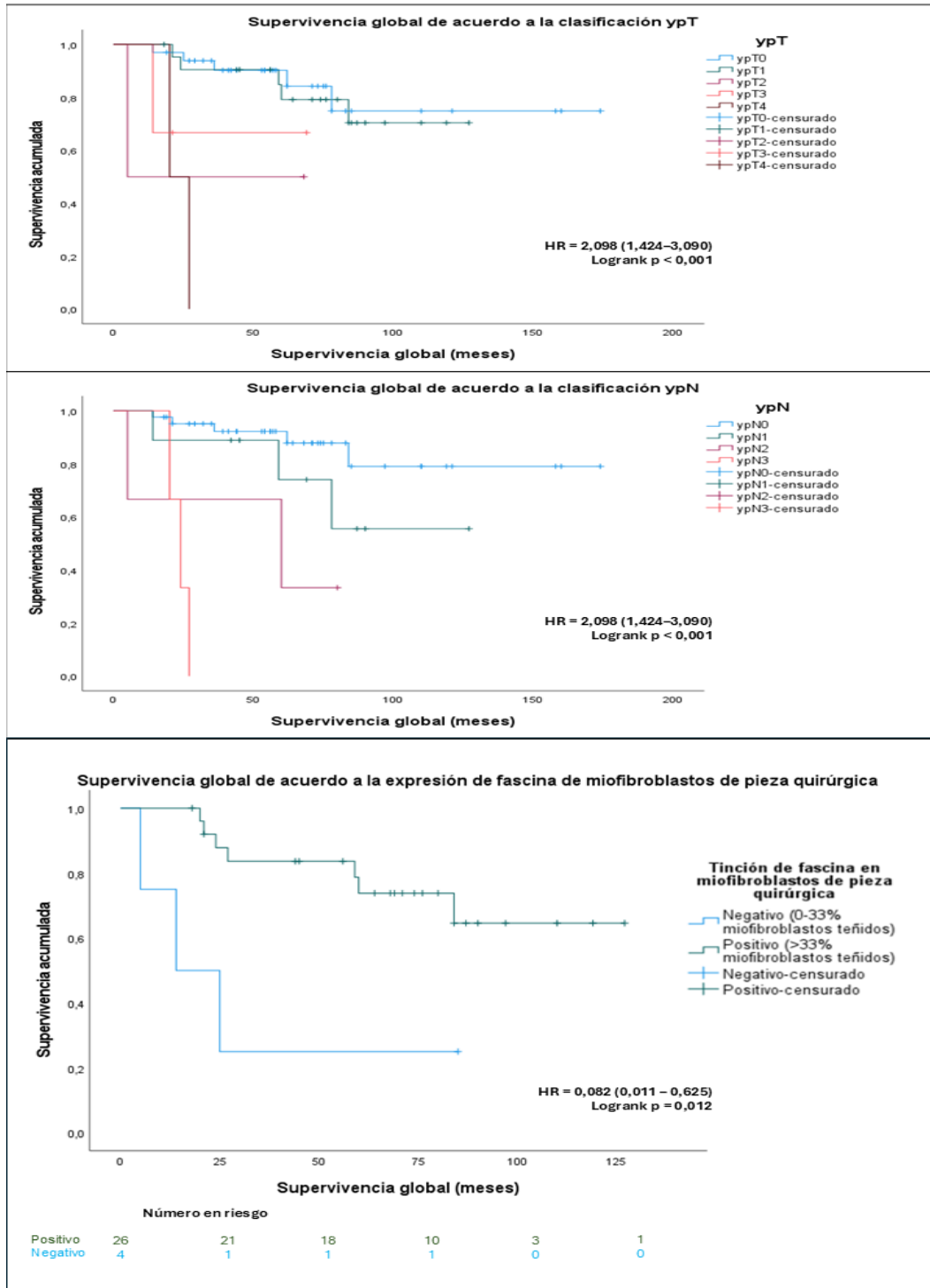
5.16. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA EN CASOS CON NEOADYUVANCIA

Al igual que en el apartado anterior, se procede a valorar la posible asociación estadística para supervivencia de las variables analizadas, univariante con análisis log rank y la correspondiente HR en aquellos con significación (Cox) (Tabla 25). Posteriormente, se exponen en la Figura 11 las gráficas de supervivencia de aquellas variables significativas en el análisis univariante en el grupo de pacientes con neoadyuvancia.

Tabla 25. Análisis de supervivencia global en casos con neoadyuvancia.

Análisis supervivencia global univariante grupo con neoadyuvancia			
Variable	N	Perdidos	Significación
Fascina en células tumorales (biopsia inicial)	51	13	p = 0,840
Fascina en miofibroblastos (biopsia inicial)	51	13	p = 0,183
Fascina en células tumorales (pieza quirúrgica)	30	0	p = 0,514
Fascina en miofibroblastos (pieza quirúrgica)	30	0	p = 0,015; HR = 0,228 (IC 95 %: 0,061–0,842)
Grado histológico elevado (G3)	60	4	p = 0,200
Subtipo NST	61	3	p = 0,297
NST tipo medular	61	3	p = 0,463
Ki-67 ≥ 30%	62	2	p = 0,749
Ki-67 ≥ 70%	62	2	p = 0,577
p53 ≥ 25%	60	4	p = 0,230
HER2 valor "0"	60	4	p = 0,699
BCL2 ≥ 10%	56	8	p = 0,824
ypT	62	2	p < 0,001; HR = 2,098 (IC 95 %: 1,424–3,090)
ypN	58	6	p < 0,001; HR=3,068 (IC 95 %: 1,872–5,026)
Análisis supervivencia global multivariante grupo con neoadyuvancia			
Fascina miofibroblastos (pieza quirúrgica)	27	3	p = 0,016; HR=0,082 (IC 95 %: 0,011–0,625)
ypT			p = 0,601
ypN			p = 0,011; HR=3,194 (IC 95 %: 1,310–7,786)

Figura 11. Gráficas de supervivencia para grupo de pacientes con neoadyuvancia según miofibroblastos pieza quirúrgica, ypT e ypN



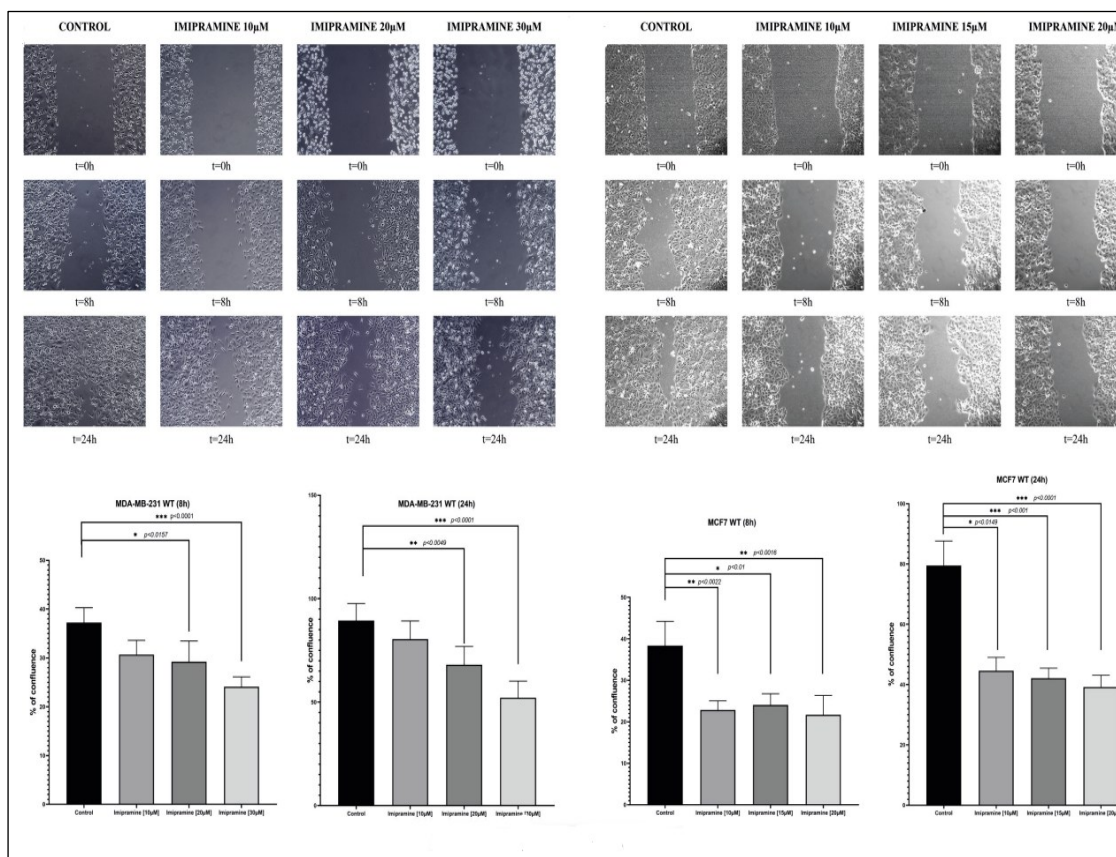
Análisis univariante miofibroblastos pieza quirúrgica: $p = 0,015$; HR = 0,228 (IC 95 %: 0,061–0,842); univariante ypT: $p < 0,001$; HR = 2,098 (IC 95 %: 1,424–3,090); univariante ypN: $p < 0,001$; HR=3,068 (IC 95 %: 1,872–5,026). Elaboración propia.

5.17. LÍNEAS CELULARES: EFECTO DE IMIPRAMINA EN LÍNEAS CELULARES LUMINALES Y TNBC

La viabilidad de las células MDA-MB-231 y MCF7 se vio significativamente afectada tras 72 horas de tratamiento con imipramina. La concentración IC_{50} fue determinada en $21,01 \pm 1,2 \mu M$ para MDA-MB-231 y $16,35 \pm 2,6 \mu M$ para MCF7. Con el objetivo de profundizar en el posible impacto de la Imipramina sobre la progresión tumoral, se realizaron ensayos de migración celular empleando distintas concentraciones del fármaco, incluyendo dosis por encima y por debajo de la IC_{50} correspondiente a cada línea celular.

Como se muestra en la Figura 12, se observaron efectos significativos sobre la migración celular en las MDA-MB-231 tratadas con $20 \mu M$ tanto a las 8 como a las 24 horas ($p = 0,0157$ y $p < 0,01$; respectivamente), y a $10 \mu M$ en células MCF7 ($p < 0,01$ y $p < 0,01$ respectivamente).

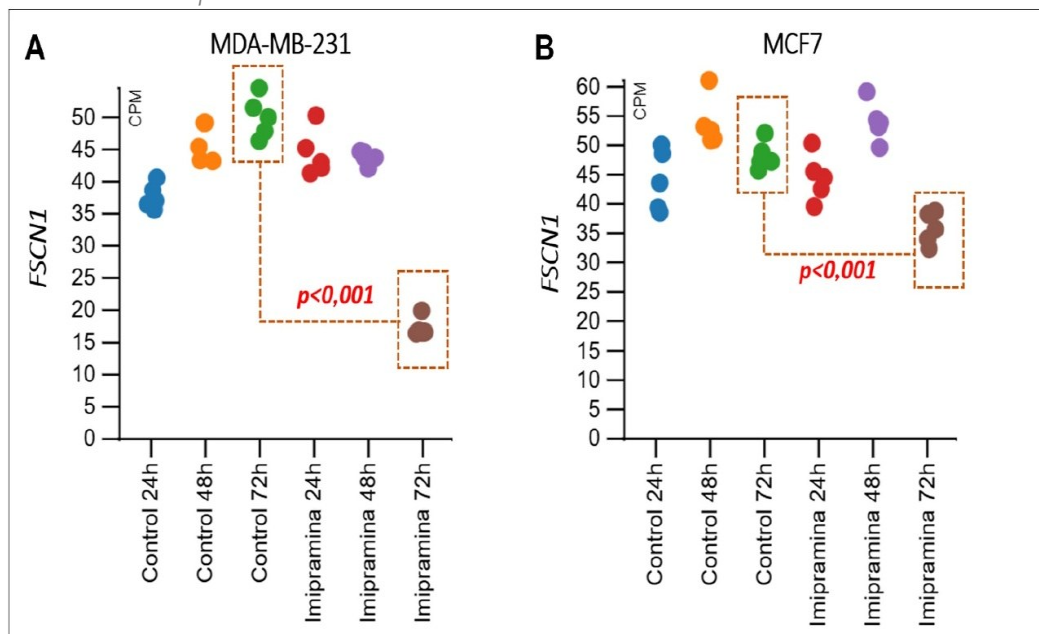
Figura 12. Efecto de la imipramina en los ensayos de migración celular en líneas celulares de cáncer de mama.



A la izquierda: Migración de células MDA-MB-231 tras el tratamiento con distintas concentraciones de imipramina durante 8 y 24 horas. A la derecha: Migración de células MCF7 tras el tratamiento con distintas concentraciones de imipramina durante 8 y 24 horas. Reproducida con autorización de los autores. Publicada originalmente en: Pérez-Parra D, et al. Characterization and Prognostic Impact of Fascin Expression in the Tumor Microenvironment of Triple-Negative Breast Cancer: Clues for a Tailored Therapy. *Laboratory Investigation*. 2025;104268. doi:10.1016/j.labinv.2025.104268. PMID: 41319754 (132)

Los niveles de ARNm de *FSCN1* en células MDA-MB-231 mostraron una disminución significativa entre el control y el tratamiento con 20 μ M de imipramina tras 72 horas ($\log_2$ fold change = $-1,46$; $p < 0,01$) (Figura 13. A). Sin embargo, no se observaron cambios significativos a las 24 ni a las 48 horas tras el tratamiento. Como se muestra en la Figura 13 B, la expresión de *FSCN1* también disminuye en células MCF7 tras 72 horas de tratamiento con 15 μ M de imipramina ($\log_2$ fold change = $-0,5$; $p < 0,01$), aunque la magnitud de esta reducción fue menor que la observada en las células MDA-MB-231. Esto podría reflejar una menor sensibilidad a la imipramina en las células MCF7, que presentan un fenotipo menos invasivo. Estos resultados sugieren que la imipramina ejerce un efecto diferencial en función del tipo de línea celular, la duración del tratamiento y el fenotipo invasivo.

Figura 13. Expresión diferencial de *FSCN1* en las líneas celulares MDA-MB-231 y MCF7 tras el tratamiento con imipramina.



(A) Cambios en la expresión de ARNm de *FSCN1* en células MDA-MB-231 tras el tratamiento con 20 μ M de imipramina. (B) Cambios en la expresión de ARNm de *FSCN1* en células MCF7 tras el tratamiento con 15 μ M de imipramina. CPM: recuentos por millón. Adaptada con autorización de los autores a partir de: Pérez-Parra D, et al. Characterization and Prognostic Impact of Fascin Expression in the Tumor Microenvironment of Triple-Negative Breast Cancer: Clues for a Tailored Therapy. Laboratory Investigation. 2025;104268. doi:10.1016/j.labinv.2025.104268. PMID: 41319754 (132).

VI – DISCUSIÓN

VI -DISCUSIÓN

La necesidad de explorar nuevas estrategias terapéuticas para el TNBC persiste debido a sus características clínicas agresivas y pronóstico desfavorable. La fascina es una proteína prácticamente ausente en células epiteliales normales (114) y se ha asociado con invasión tumoral y peor pronóstico en diversas neoplasias (70,107,115). Por ello, *FSCN1* constituye una diana terapéutica prometedora en distintos tipos de cáncer, incluido el TNBC. Estudios previos que incluyeron distintos subtipos de cáncer de mama han demostrado que la expresión de fascina es más elevada en TNBC (116).

En este contexto, el estudio de proteínas implicadas en la organización del citoesqueleto y en la dinámica de migración celular ha adquirido especial relevancia en los últimos años, dado que estos procesos desempeñan un papel central en la invasión tumoral y en la diseminación metastásica. Entre ellas, la fascina ha emergido como un regulador clave de la formación de filopodios y de la motilidad celular, lo que ha motivado un creciente interés en su papel como biomarcador tumoral y como posible diana terapéutica en distintos tipos de cáncer (114).

El presente trabajo se centra exclusivamente en TNBC y evalúa la fascina como marcador pronóstico y como posible objetivo terapéutico, representando hasta la fecha, la serie más amplia que analiza la expresión de fascina en células tumorales y miofibroblastos dentro del microambiente tumoral en TNBC (106,116–119). Cabe destacar que no se han reportado previamente resultados sobre tinción de fascina en miofibroblastos en TNBC, lo que confiere novedad a nuestros hallazgos.

Nuestros resultados muestran que, en pacientes no tratados previamente con quimioterapia neoadyuvante, la positividad de fascina en células tumorales en la biopsia inicial se correlaciona estrechamente con la del espécimen quirúrgico, lo que indica que la evaluación de fascina en células tumorales puede realizarse de manera fiable en cualquiera de las dos muestras, facilitando tanto la investigación futura como la toma de decisiones clínicas. Los trabajos en la

literatura revisada han evaluado la expresión de fascina en células tumorales en piezas quirúrgicas (116,119,120) o muestras no especificadas, sin que existan trabajos que comparen directamente la expresión de fascina entre biopsia inicial y pieza quirúrgica.

En pacientes tratados con quimioterapia neoadyuvante, no se observó una correlación significativa en la positividad de fascina ni en células tumorales ni en miofibroblastos entre la biopsia inicial y la pieza quirúrgica. Estos resultados sugieren que, en este contexto, la determinación de fascina debería realizarse utilizando un tipo de muestra específico, seleccionado en función de los objetivos del estudio.

6.1. EXPRESIÓN DE FASCINA EN CÉLULAS TUMORALES

Nuestros resultados muestran tendencias similares a las descritas previamente en la literatura respecto a la expresión de fascina en células tumorales. En nuestra cohorte se observó una mayor frecuencia de positividad de fascina en tumores de alto grado histológico (G3), proliferación elevada (Ki-67 $\geq 30\%$) y tumores HER2-0. Aunque estas asociaciones no alcanzaron significación estadística tras aplicar el umbral de significación utilizado en esta tesis, los resultados siguen una dirección concordante con estudios previos que relacionan la expresión de fascina con el fenotipo basal-like y con características biológicas más agresivas del tumor (106,116,117,119,121).

Cabe señalar que en el trabajo previamente publicado por nuestro grupo se empleó un umbral de corrección por comparaciones múltiples más permisivo (FDR del 10%), mientras que en la presente tesis se ha adoptado un criterio más conservador (FDR del 5%). Esta diferencia metodológica podría explicar que algunas asociaciones observadas previamente no alcancen significación estadística en el presente análisis.

Adicionalmente, se observó una asociación descriptiva con carcinomas medulares y una relación inversa con la extensión extracapsular ganglionar. Aunque estas observaciones deben interpretarse con cautela debido a la ausencia de significación estadística, podrían sugerir que la expresión de fascina está implicada en procesos relacionados con la migración y la invasión celular, tal

como se ha propuesto en estudios experimentales previos (114,122). Estas discrepancias con algunos trabajos que han descrito una relación directa entre fascina y metástasis ganglionares ponen de manifiesto la complejidad del papel de esta proteína en la progresión tumoral y sugieren que su impacto biológico podría depender de factores contextuales, como el subtipo tumoral o las características del microambiente tumoral.

En cuanto a variables genéticas, la expresión de fascina en células tumorales no mostró asociación directa con la presencia de mutaciones germinales en *BRCA1* en nuestra cohorte. No obstante, la literatura ha señalado que la expresión de fascina es frecuente en tumores basal-like, subtipo molecular estrechamente relacionado con mutaciones en *BRCA1* (116). Este hecho podría indicar una relación indirecta entre la expresión de fascina y el estado de *BRCA1*, hipótesis que requeriría ser explorada en estudios con mayor tamaño muestral y caracterización molecular más detallada.

Por último, otras variables clínicas como la edad, la lateralidad, el subtipo histológico o la presencia de metástasis extraganglionares al diagnóstico o durante el seguimiento no mostraron asociación significativa con la expresión de fascina en células tumorales. Estos resultados sugieren que la expresión de fascina podría reflejar principalmente características biológicas intrínsecas del tumor, relacionadas con su perfil molecular y su potencial invasivo, más que con parámetros clínicos generales o con el estadio tumoral inicial.

Además, a diferencia de algunos estudios previos que analizaron conjuntamente carcinomas luminales y TNBC (106,117,119), en nuestra cohorte exclusiva de TNBC no se observó una asociación significativa entre la expresión de fascina en células tumorales y la supervivencia global. Este resultado podría explicarse por la relativa homogeneidad biológica del subtipo analizado, lo que sugiere que el valor pronóstico de fascina podría depender del contexto molecular específico del tumor y de la interacción con el microambiente tumoral (114,122).

6.2. EXPRESIÓN DE FASCINA EN MIOFIBROBLASTOS

Los CAFs, entre los que se incluyen los miofibroblastos, desempeñan un papel clave en la regulación del microambiente tumoral. Estas células pueden formar filopodios que facilitan la migración e invasión tumoral, procesos en los que la fascina contribuye aumentando la longitud y el número de estas estructuras celulares (123). Asimismo, diversos factores derivados de fibroblastos asociados a cáncer pueden regular la expresión de fascina en las células tumorales, modulando así la dinámica invasiva del tumor (124).

En nuestra cohorte, la expresión de fascina en miofibroblastos mostró mayor variabilidad que en células tumorales y no se asoció de forma significativa con la mayoría de las variables clínicas o histológicas analizadas. Sin embargo, en el contexto de tratamiento neoadyuvante, la expresión de fascina en miofibroblastos de la biopsia inicial se identificó como el único factor predictivo independiente de respuesta patológica completa en el análisis mediante regresión logística binaria.

Estos hallazgos sugieren que la expresión de fascina en miofibroblastos podría reflejar la capacidad del microambiente tumoral para modular la respuesta a la quimioterapia, un fenómeno que ha sido descrito en estudios sobre CAFs y su papel en la progresión tumoral y la metástasis (108,124). Además, en las piezas quirúrgicas tras tratamiento neoadyuvante, la expresión de fascina en miofibroblastos peritumorales se asoció con una mejor supervivencia global, un hallazgo novedoso que podría relacionarse con procesos de remodelación estromal o con mecanismos de señalización paracrina entre fibroblastos y células tumorales. No obstante, debido al tamaño limitado del subgrupo analizado, estos resultados deben interpretarse con cautela y requerirán validación en cohortes independientes de mayor tamaño (125).

Por otra parte, se ha descrito que los miofibroblastos del tejido mamario normal no expresan fascina (126), lo que refuerza la especificidad de este marcador en el microambiente tumoral. En conjunto, nuestros resultados sugieren que la expresión de fascina en miofibroblastos podría constituir un marcador útil para caracterizar el comportamiento del microambiente tumoral en TNBC y potencialmente actuar como marcador predictivo de respuesta terapéutica y de pronóstico en este subtipo de cáncer de mama.

6.3. IMPLICACIONES TERAPÉUTICAS: IMIPRAMINA

Los experimentos *in vitro* con imipramina demostraron una reducción significativa de la expresión de *FSCN1* y de la migración celular en las líneas MDA-MB-231 (TNBC) y MCF7 (luminal). Sin embargo, la magnitud del efecto fue mayor en la línea TNBC, en la que la disminución de *FSCN1* fue más marcada y se acompañó de una inhibición más evidente de la capacidad migratoria. Estas diferencias probablemente reflejan la mayor dependencia de *FSCN1* para los procesos de motilidad e invasión en células con fenotipo mesenquimal y alta agresividad biológica, como las del TNBC, mientras que las líneas luminales presentan menor expresión basal y menor dependencia funcional de esta proteína (127).

Nuestros resultados son concordantes con datos transcriptómicos previos procedentes de RNA-seq (GSE190814), que muestran niveles basales más elevados de *FSCN1* en líneas TNBC en comparación con líneas luminales (127). En términos comparativos, nuestro estudio y el citado trabajo muestran tendencias concordantes en los efectos de la imipramina, si bien existen diferencias metodológicas que podrían explicar ligeras variaciones en los resultados. En concreto, Timilsina et al. emplearon concentraciones más elevadas y tiempos de exposición más prolongados, mientras que nuestro trabajo analiza múltiples puntos temporales con dosis inferiores, lo que permite caracterizar de forma más precisa la dinámica temporal de la regulación de *FSCN1*. En conjunto, estos hallazgos apoyan la hipótesis de que la inhibición de *FSCN1* podría tener un efecto terapéutico más relevante en tumores con mayor dependencia de esta vía molecular.

En este contexto, el ensayo clínico en marcha HITCLIF evalúa el potencial de la imipramina como tratamiento antiinvasivo en tumores que sobreexpresan fascina, incluyendo cáncer colorrectal y cáncer de mama, y representa el primer estudio clínico que selecciona a los pacientes en función de la expresión de esta proteína (128). Estos estudios refuerzan el interés de *FSCN1* como posible diana terapéutica y biomarcador de selección de pacientes.

6.4. INTEGRACIÓN DE HALLAZGOS CLÍNICOS Y PRECLÍNICOS

En conjunto, nuestros resultados integran hallazgos clínicos y experimentales que contribuyen a comprender mejor el papel de fascina en el TNBC.

En primer lugar, la expresión de fascina en células tumorales se asocia con características histológicas de mayor agresividad, como alto grado histológico y elevada proliferación, lo que concuerda con estudios previos que relacionan esta proteína con fenotipos basales y con un comportamiento biológico más invasivo (106,117,119,121).

En segundo lugar, la expresión de fascina en miofibroblastos peritumorales emerge como un marcador predictivo independiente tanto de respuesta completa al tratamiento neoadyuvante como de supervivencia en pacientes tratados con este enfoque, lo que sugiere que el microambiente tumoral puede desempeñar un papel relevante en la respuesta terapéutica (108,124).

Por último, los experimentos *in vitro* demuestran que la inhibición farmacológica de *FSCN1* mediante imipramina reduce su expresión y limita la migración celular, especialmente en modelos TNBC (127). Estos hallazgos sugieren un posible enfoque terapéutico que combine los tratamientos citotóxicos convencionales con estrategias dirigidas a modular tanto las células tumorales como el microambiente tumoral (114,122).

En conjunto, los resultados de esta tesis refuerzan el papel de la fascina como un elemento clave en la biología del cáncer de mama triple negativo, no solo en las células tumorales sino también en el microambiente estromal. La asociación de la expresión de fascina en miofibroblastos con la respuesta completa al tratamiento neoadyuvante y con la supervivencia sugiere que la interacción entre tumor y estroma puede desempeñar un papel relevante en la respuesta terapéutica. Además, la capacidad de la imipramina para reducir la expresión de *FSCN1* y limitar la migración celular en modelos *in vitro* respalda el potencial de esta vía como diana terapéutica. Estos hallazgos sitúan a la fascina como un posible biomarcador integrador de agresividad tumoral, respuesta terapéutica y vulnerabilidad farmacológica en TNBC.

VII – CONCLUSIONES

VII - CONCLUSIONES

7.1. EN RELACIÓN CON LOS OBJETIVOS PRINCIPALES

- La expresión inmunohistoquímica de fascina en TNBC no mostró un valor pronóstico consistente en el análisis global; sin embargo, su expresión en miofibroblastos estromales (subpoblación miofibroblástica de los CAFs) se asoció con predicción de respuesta completa en la biopsia inicial y, tras la neoadyuvancia, en la pieza quirúrgica, con mejor supervivencia global; esto apunta a un papel contextual dependiente del microambiente tumoral y de la presión terapéutica.
- La imipramina moduló la expresión de *FSCN1* y redujo la viabilidad y la capacidad migratoria celular, con un efecto más marcado en el modelo TNBC, lo que respalda el interés de estrategias dirigidas a inhibir la expresión del gen *FSCN1* y la producción de la proteína fascina como potencial diana terapéutica en este subtipo tumoral.

7.2. EN RELACIÓN CON LOS OBJETIVOS SECUNDARIOS

- En células tumorales, la expresión de fascina mostró una alta concordancia entre biopsia y pieza quirúrgica en ausencia de neoadyuvancia, mientras que tras tratamiento se observó una disminución significativa de la intensidad en la pieza quirúrgica; en miofibroblastos no se evidenció concordancia significativa entre ambas determinaciones, sugiriendo un comportamiento más variable del compartimento estromal.
- El análisis específico del compartimento estromal evidenció que la expresión de fascina en miofibroblastos presenta un comportamiento biológico diferenciado respecto a las células tumorales, reforzando la relevancia del microambiente en la modulación de la respuesta terapéutica en TNBC.
- El tratamiento anti-fascina en líneas celulares indujo cambios funcionales compatibles con una reducción del potencial migratorio, con efectos dependientes del subtipo biológico del modelo celular, siendo más marcados en las líneas de cáncer de mama triple negativo que en las lumbinales.

VIII - LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

VIII - LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

8.1. LIMITACIONES

- **Diseño retrospectivo y unicéntrico:** el estudio presenta un diseño retrospectivo y unicéntrico, lo que puede incurrir en posibles sesgos de selección y limitar la extrapolación de resultados a otras poblaciones.
- **Tamaño muestral limitado en subgrupos:** a pesar de que la cohorte total era amplia (145 casos de TNBC), algunos subgrupos como los pacientes tratados con neoadyuvancia y tumor en pieza quirúrgica, presentaron un número limitado de casos, lo que pudo disminuir la potencia estadística en determinados análisis
- **Variabilidad técnica en inmunohistoquímica:** la evaluación de la expresión de fascina puede verse influida por variables técnicas como el anticuerpo empleado, los protocolos de tinción y los puntos de corte establecidos, lo que dificulta la comparación directa con otras series publicadas.
- **Ausencia de validación externa:** los resultados no fueron validados en una cohorte independiente, lo que limita su confirmación externa y su aplicabilidad clínica inmediata.
- **Limitaciones de modelos *in vitro*:** los experimentos con imipramina fueron realizados con líneas celulares comerciales, que no reproducen completamente la heterogeneidad biológica del TNBC en el contexto clínico real.

8.2. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

- **Validación en cohortes multicéntricas y prospectivas:** la replicación de estos resultados en estudios prospectivos y multicéntricos permitiría confirmar el valor clínico de la expresión de fascina en células tumorales y estromales.
- **Profundizar en el papel del microambiente tumoral:** el comportamiento diferencial observado en miofibroblastos tras neoadyuvancia justifica el desarrollo de estudios funcionales dirigidos a caracterizar el papel de los CAFs y su interacción con *FSCN1*/fascina en modelos preclínicos.
- **Desarrollo de biomarcadores combinados:** la integración de la expresión de fascina con otros parámetros clínico-patológicos y moleculares podría contribuir al desarrollo de modelos predictivos más precisos en TNBC.
- **Exploración de terapias personalizadas:** la identificación de subgrupos de pacientes que pudieran beneficiarse de terapias dirigidas contra el eje *FSCN1*-fascina constituye una línea de investigación prometedora hacia una medicina más personalizada en TNBC.

IX - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IX - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. O'Dowd Geraldine, Bell Sarah, Wright Sylvia. Wheater. Histología funcional : Texto y Atlas en color. Elsevier; 2024.
2. NIH National institute of Health. National Cancer Institute. Breast Cancer [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute; [cited 2025 Oct 15]. Available from: <https://www.cancer.gov/types/breast>
3. Allison KH, Brogi E, Salgado P. Breast tumours. International Agency for Research on Cancer; 2019. 356 p.
4. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. noviembre de 2018;68(6):394-424. doi:10.3322/caac.21492 PubMed PMID: 30207593.
5. Work ME, Andrulis IL, John EM, Hopper JL, Liao Y, Zhang FF, et al. Risk factors for uncommon histologic subtypes of breast cancer using centralized pathology review in the Breast Cancer Family Registry. Breast Cancer Res Treat. agosto de 2012;134(3):1209-20. doi:10.1007/s10549-012-2056-y PubMed PMID: 22527103.
6. DeSantis CE, Bray F, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Anderson BO, Jemal A. International Variation in Female Breast Cancer Incidence and Mortality Rates. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. octubre de 2015;24(10):1495-506. doi:10.1158/1055-9965.EPI-15-0535 PubMed PMID: 26359465.
7. Bray F, McCarron P, Parkin DM. The changing global patterns of female breast cancer incidence and mortality. Breast Cancer Res. 2004;6(6):229-39. doi:10.1186/bcr932 PubMed PMID: 15535852.
8. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Las cifras del cáncer en España. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM); 2024.

9. Reeves GK, Pirie K, Green J, Bull D, Beral V, Million Women Study Collaborators. Reproductive factors and specific histological types of breast cancer: prospective study and meta-analysis. *Br J Cancer*. 10 de febrero de 2009;100(3):538-44. doi:10.1038/sj.bjc.6604853 PubMed PMID: 19190634.
10. Newcomb PA, Trentham-Dietz A, Hampton JM, Egan KM, Titus-Ernstoff L, Warren Andersen S, et al. Late age at first full term birth is strongly associated with lobular breast cancer. *Cancer*. 1 de mayo de 2011;117(9):1946-56. doi:10.1002/cncr.25728 PubMed PMID: 21509772.
11. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Pharmaceuticals. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2012;100(Pt A):1-401. PubMed PMID: 23189749.
12. Bogdanova N, Helbig S, Dörk T. Hereditary breast cancer: ever more pieces to the polygenic puzzle. *Hered Cancer Clin Pract*. 11 de septiembre de 2013;11(1):12. doi:10.1186/1897-4287-11-12 PubMed PMID: 24025454.
13. Yang XR, Chang-Claude J, Goode EL, Couch FJ, Nevanlinna H, Milne RL, et al. Associations of breast cancer risk factors with tumor subtypes: a pooled analysis from the Breast Cancer Association Consortium studies. *J Natl Cancer Inst*. 2 de febrero de 2011;103(3):250-63. doi:10.1093/jnci/djq526 PubMed PMID: 21191117.
14. González-Rivera M, Lobo M, López-Tarruella S, Jerez Y, Del Monte-Millán M, Massarrah T, et al. Erratum to: Frequency of germline DNA genetic findings in an unselected prospective cohort of triple-negative breast cancer patients participating in a platinum-based neoadjuvant chemotherapy trial. *Breast Cancer Res Treat*. septiembre de 2017;165(2):471. doi:10.1007/s10549-017-4396-0 PubMed PMID: 28721639.
15. Couch FJ, Hart SN, Sharma P, Toland AE, Wang X, Miron P, et al. Inherited mutations in 17 breast cancer susceptibility genes among a large triple-negative breast cancer cohort unselected for family history of breast cancer. *J Clin Oncol*. 1 de febrero de 2015;33(4):304-11. doi:10.1200/JCO.2014.57.1414 PubMed PMID: 25452441.

16. Prakash R, Zhang Y, Feng W, Jasin M. Homologous recombination and human health: the roles of BRCA1, BRCA2, and associated proteins. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 1 de abril de 2015;7(4):a016600. doi:10.1101/cshperspect.a016600 PubMed PMID: 25833843.
17. Marvalim C, Datta A, Lee SC. Role of p53 in breast cancer progression: An insight into p53 targeted therapy. *Theranostics.* 2023;13(4):1421-42. doi:10.7150/thno.81847 PubMed PMID: 36923534.
18. DeGraffenried LA, Fulcher L, Friedrichs WE, Grünwald V, Ray RB, Hidalgo M. Reduced PTEN expression in breast cancer cells confers susceptibility to inhibitors of the PI3 kinase/Akt pathway. *Ann Oncol.* octubre de 2004;15(10):1510-6. doi:10.1093/annonc/mdh388 PubMed PMID: 15367412.
19. Pegram M, Jackisch C, Johnston SRD. Estrogen/HER2 receptor crosstalk in breast cancer: combination therapies to improve outcomes for patients with hormone receptor-positive/HER2-positive breast cancer. *NPJ Breast Cancer.* 31 de mayo de 2023;9(1):45. doi:10.1038/s41523-023-00533-2 PubMed PMID: 37258523.
20. Reinhardt K, Stückerath K, Hartung C, Kaufhold S, Uleer C, Hanf V, et al. PIK3CA-mutations in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* diciembre de 2022;196(3):483-93. doi:10.1007/s10549-022-06637-w PubMed PMID: 36279023.
21. Green AR, Aleskandarany MA, Agarwal D, Elsheikh S, Nolan CC, Diez-Rodriguez M, et al. MYC functions are specific in biological subtypes of breast cancer and confers resistance to endocrine therapy in luminal tumours. *Br J Cancer.* 12 de abril de 2016;114(8):917-28. doi:10.1038/bjc.2016.46 PubMed PMID: 26954716.
22. Williams MM, Cook RS. Bcl-2 family proteins in breast development and cancer: could Mcl-1 targeting overcome therapeutic resistance? *Oncotarget.* 28 de febrero de 2015;6(6):3519-30. doi:10.18632/oncotarget.2792 PubMed PMID: 25784482.
23. Han J, Ruan C, Huen MSY, Wang J, Xie A, Fu C, et al. BRCA2 antagonizes classical and alternative nonhomologous end-joining

to prevent gross genomic instability. *Nat Commun.* 13 de noviembre de 2017;8(1):1470. doi:10.1038/s41467-017-01759-y PubMed PMID: 29133916.

24. Wu R, Patel A, Tokumaru Y, Asaoka M, Oshi M, Yan L, et al. High RAD51 gene expression is associated with aggressive biology and with poor survival in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* mayo de 2022;193(1):49-63. doi:10.1007/s10549-022-06552-0 PubMed PMID: 35249172.

25. Chin SF, Teschendorff AE, Marioni JC, Wang Y, Barbosa-Morais NL, Thorne NP, et al. High-resolution aCGH and expression profiling identifies a novel genomic subtype of ER negative breast cancer. *Genome Biol.* 2007;8(10):R215. doi:10.1186/gb-2007-8-10-r215 PubMed PMID: 17925008.

26. Pollack JR, Sørlie T, Perou CM, Rees CA, Jeffrey SS, Lonning PE, et al. Microarray analysis reveals a major direct role of DNA copy number alteration in the transcriptional program of human breast tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1 de octubre de 2002;99(20):12963-8. doi:10.1073/pnas.162471999 PubMed PMID: 12297621.

27. Veeck J, Esteller M. Breast cancer epigenetics: from DNA methylation to microRNAs. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* marzo de 2010;15(1):5-17. doi:10.1007/s10911-010-9165-1 PubMed PMID: 20101446.

28. Huang Y, Nayak S, Jankowitz R, Davidson NE, Oesterreich S. Epigenetics in breast cancer: what's new? *Breast Cancer Res.* 2011;13(6):225. doi:10.1186/bcr2925 PubMed PMID: 22078060.

29. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 17 de agosto de 2000;406(6797):747-52. doi:10.1038/35021093 PubMed PMID: 10963602.

30. Konecny G, Pauletti G, Pegram M, Untch M, Dandekar S, Aguilar Z, et al. Quantitative association between HER-2/neu and steroid hormone receptors in hormone receptor-positive primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 15 de enero de 2003;95(2):142-53. doi:10.1093/jnci/95.2.142 PubMed PMID: 12529347.

31. Eiermann W, Rezai M, Kümmel S, Kühn T, Warm M, Friedrichs K, et al. The 21-gene recurrence score assay impacts adjuvant therapy recommendations for ER-positive, node-negative and node-positive early breast cancer resulting in a risk-adapted change in chemotherapy use. *Ann Oncol.* marzo de 2013;24(3):618-24. doi:10.1093/annonc/mds512 PubMed PMID: 23136233.
32. Nelson HD, Tyne K, Naik A, Bougatsos C, Chan BK, Humphrey L, et al. Screening for breast cancer: an update for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med.* 17 de noviembre de 2009;151(10):727-37, W237-42. doi:10.7326/0003-4819-151-10-200911170-00009 PubMed PMID: 19920273.
33. Aibar L, Santalla A, Criado MSL, González-Pérez I, Calderón MA, Gallo JL, et al. Clasificación radiológica y manejo de las lesiones mamarias. *Clin Invest Ginecol Obstet.* julio de 2011;38(4):141-9. doi:10.1016/j.gine.2010.10.016
34. Rakha EA, Ellis IO. Modern classification of breast cancer: should we stick with morphology or convert to molecular profile characteristics. *Adv Anat Pathol.* julio de 2011;18(4):255-67. doi:10.1097/PAP.0b013e318220f5d1 PubMed PMID: 21654357.
35. Rakha EA, Ellis IO. Lobular breast carcinoma and its variants. *Semin Diagn Pathol.* febrero de 2010;27(1):49-61. doi:10.1053/j.semdp.2009.12.009 PubMed PMID: 20306830.
36. Rakha EA, Reis-Filho JS, Ellis IO. Basal-like breast cancer: a critical review. *J Clin Oncol.* 20 de mayo de 2008;26(15):2568-81. doi:10.1200/JCO.2007.13.1748 PubMed PMID: 18487574.
37. Diab SG, Clark GM, Osborne CK, Libby A, Allred DC, Elledge RM. Tumor characteristics and clinical outcome of tubular and mucinous breast carcinomas. *J Clin Oncol.* mayo de 1999;17(5):1442-8. doi:10.1200/JCO.1999.17.5.1442 PubMed PMID: 10334529.
38. Vranic S, Schmitt F, Sapino A, Costa JL, Reddy S, Castro M, et al. Apocrine carcinoma of the breast: a comprehensive review. *Histol Histopathol.* noviembre de 2013;28(11):1393-409. doi:10.14670/HH-28.1393 PubMed PMID: 23771415.

39. Yan Q, Deng Y, Zhang Q. A comprehensive overview of metaplastic breast cancer: Features and treatments. *Cancer Sci.* agosto de 2024;115(8):2506-14. doi:10.1111/cas.16208 PubMed PMID: 38735837.
40. BLOOM HJ, RICHARDSON WW. Histological grading and prognosis in breast cancer; a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer.* septiembre de 1957;11(3):359-77. doi:10.1038/bjc.1957.43 PubMed PMID: 13499785.
41. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology.* noviembre de 1991;19(5):403-10. doi:10.1111/j.1365-2559.1991.tb00229.x PubMed PMID: 1757079.
42. Liu Y, He M, Zuo WJ, Hao S, Wang ZH, Shao ZM. Tumor Size Still Impacts Prognosis in Breast Cancer With Extensive Nodal Involvement. *Front Oncol.* 2021;11:585613. doi:10.3389/fonc.2021.585613 PubMed PMID: 33898305.
43. Amin MB., Edge SB. *AJCC cancer staging manual.* Springer; 2017. 1024 p.
44. Sociedad Española de Anatomía Patológica, SEAP. *Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España 2023.* 2023.
45. Palacios Calvo J, Albanell J, Rojo F, Ciruelos E, Aranda-López I, Cortés J, et al. [Consensus statement on biomarkers in breast cancer by the Spanish Society of Pathology and the Spanish Society of Medical Oncology]. *Rev Esp Patol.* 2018;51(2):97-109. doi:10.1016/j.patol.2017.12.002 PubMed PMID: 29602380.
46. McAndrew NP, Finn RS. Clinical Review on the Management of Hormone Receptor-Positive Metastatic Breast Cancer. *JCO Oncol Pract.* mayo de 2022;18(5):319-27. doi:10.1200/OP.21.00384
47. Allison KH, Hammond MEH, Dowsett M, McKernin SE, Carey LA, Fitzgibbons PL, et al. Estrogen and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer: ASCO/CAP Guideline Update. *Journal of Clinical Oncology.* 20 de abril de 2020;38(12):1346-66. doi:10.1200/JCO.19.02309

48. Wolff AC, Somerfield MR, Dowsett M, Hammond MEH, Hayes DF, McShane LM, et al. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 1 de septiembre de 2023;147(9):993-1000. doi:10.5858/arpa.2023-0950-SA PubMed PMID: 37303228.
49. Eom YH, Kim HS, Lee A, Song BJ, Chae BJ. BCL2 as a Subtype-Specific Prognostic Marker for Breast Cancer. *J Breast Cancer*. septiembre de 2016;19(3):252-60. doi:10.4048/jbc.2016.19.3.252 PubMed PMID: 27721874.
50. Vilardell F, Novell A, Martin J, Santacana M, Velasco A, Díez-Castro MJ, et al. Importance of assessing CK19 immunostaining in core biopsies in patients subjected to sentinel node study by OSNA. *Virchows Arch*. junio de 2012;460(6):569-75. doi:10.1007/s00428-012-1241-z PubMed PMID: 22555942.
51. Cserni G, Quinn CM, Foschini MP, Bianchi S, Callagy G, Chmielik E, et al. Triple-Negative Breast Cancer Histological Subtypes with a Favourable Prognosis. *Cancers (Basel)*. 14 de noviembre de 2021;13(22). doi:10.3390/cancers13225694 PubMed PMID: 34830849.
52. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rubio IT, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann Oncol*. 1 de agosto de 2019;30(8):1194-220. doi:10.1093/annonc/mdz173 PubMed PMID: 31161190.
53. Ayala de la Peña F, Antolín Novoa S, Gavilá Gregori J, González Cortijo L, Henao Carrasco F, Martínez Martínez MT, et al. SEOM-GEICAM-SOLTI clinical guidelines for early-stage breast cancer (2022). *Clinical and Translational Oncology*. 16 de junio de 2023;25(9):2647-64. doi:10.1007/s12094-023-03215-4
54. Hortobagyi GN. Treatment of breast cancer. *N Engl J Med*. 1 de octubre de 1998;339(14):974-84. doi:10.1056/NEJM199810013391407 PubMed PMID: 9753714.
55. Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in

antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol Rev.* junio de 2004;56(2):185-229. doi:10.1124/pr.56.2.6 PubMed PMID: 15169927.

56. von Minckwitz G, Schneeweiss A, Loibl S, Salat C, Denkert C, Rezai M, et al. Neoadjuvant carboplatin in patients with triple-negative and HER2-positive early breast cancer (GeparSixto; GBG 66): a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol.* junio de 2014;15(7):747-56. doi:10.1016/S1470-2045(14)70160-3 PubMed PMID: 24794243.

57. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med.* 15 de marzo de 2001;344(11):783-92. doi:10.1056/NEJM200103153441101 PubMed PMID: 11248153.

58. Finn RS, Martin M, Rugo HS, Jones S, Im SA, Gelmon K, et al. Palbociclib and Letrozole in Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med.* 17 de noviembre de 2016;375(20):1925-36. doi:10.1056/NEJMoa1607303 PubMed PMID: 27959613.

59. Robson M, Im SA, Senkus E, Xu B, Domchek SM, Masuda N, et al. Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline BRCA Mutation. *N Engl J Med.* 10 de agosto de 2017;377(6):523-33. doi:10.1056/NEJMoa1706450 PubMed PMID: 28578601.

60. Schmid P, Cortes J, Pusztai L, McArthur H, Kümmel S, Bergh J, et al. Pembrolizumab for Early Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med.* 27 de febrero de 2020;382(9):810-21. doi:10.1056/NEJMoa1910549 PubMed PMID: 32101663.

61. Ogston KN, Miller ID, Payne S, Hutcheon AW, Sarkar TK, Smith I, et al. A new histological grading system to assess response of breast cancers to primary chemotherapy: prognostic significance and survival. *Breast.* octubre de 2003;12(5):320-7. doi:10.1016/s0960-9776(03)00106-1 PubMed PMID: 14659147.

62. Symmans WF, Peintinger F, Hatzis C, Rajan R, Kuerer H, Valero V, et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol.* 1 de octubre de

CAPÍTULO IX – REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

2007;25(28):4414-22. doi:10.1200/JCO.2007.10.6823 PubMed PMID: 17785706.

63. Sedeh RS, Fedorov AA, Fedorov E V, Ono S, Matsumura F, Almo SC, et al. Structure, evolutionary conservation, and conformational dynamics of Homo sapiens fascin-1, an F-actin crosslinking protein. *J Mol Biol.* 16 de julio de 2010;400(3):589-604. doi:10.1016/j.jmb.2010.04.043 PubMed PMID: 20434460.

64. Jansen S, Collins A, Yang C, Rebowski G, Svitkina T, Dominguez R. Mechanism of actin filament bundling by fascin. *J Biol Chem.* 26 de agosto de 2011;286(34):30087-96. doi:10.1074/jbc.M111.251439 PubMed PMID: 21685497.

65. Adams JC. Roles of fascin in cell adhesion and motility. *Curr Opin Cell Biol.* octubre de 2004;16(5):590-6. doi:10.1016/j.ceb.2004.07.009 PubMed PMID: 15363811.

66. Jayo A, Parsons M. Fascin: a key regulator of cytoskeletal dynamics. *Int J Biochem Cell Biol.* octubre de 2010;42(10):1614-7. doi:10.1016/j.biocel.2010.06.019 PubMed PMID: 20601080.

67. Mosialos G, Birkenbach M, Ayehunie S, Matsumura F, Pinkus GS, Kieff E, et al. Circulating human dendritic cells differentially express high levels of a 55-kd actin-bundling protein. *Am J Pathol.* febrero de 1996;148(2):593-600. PubMed PMID: 8579121.

68. Wang Y, Song M, Liu M, Zhang G, Zhang X, Li MO, et al. Fascin inhibitor increases intratumoral dendritic cell activation and anti-cancer immunity. *Cell Rep.* 6 de abril de 2021;35(1). doi:10.1016/j.celrep.2021.108948 PubMed PMID: 33826900.

69. Gong R, Reynolds MJ, Carney KR, Hamilton K, Bidone TC, Alushin GM. Fascin structural plasticity mediates flexible actin bundle construction. *bioRxiv.* 10 de febrero de 2024. doi:10.1101/2024.01.03.574123 PubMed PMID: 38260322.

70. Lamb MC, Tootle TL. Fascin in Cell Migration: More Than an Actin Bundling Protein. *Biology (Basel).* 17 de noviembre de 2020;9(11). doi:10.3390/biology9110403 PubMed PMID: 33212856.

71. Wang HJ, Jiang YP, Zhang JY, Tang XQ, Lou JS, Huang XY. Roles of Fascin in Dendritic Cells. *Cancers*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023. doi:10.3390/cancers15143691
72. Yang W, Wei X, Jiao Y, Bai Y, Sam WN, Yan Q, et al. STAT3/HIF-1 α /fascin-1 axis promotes RA FLSs migration and invasion ability under hypoxia. *Mol Immunol*. febrero de 2022;142:83-94. doi:10.1016/j.molimm.2021.12.004 PubMed PMID: 34971867.
73. Li A, Morton JP, Ma Y, Karim SA, Zhou Y, Faller WJ, et al. Fascin is regulated by slug, promotes progression of pancreatic cancer in mice, and is associated with patient outcomes. *Gastroenterology*. mayo de 2014;146(5):1386-96.e1-17. doi:10.1053/j.gastro.2014.01.046 PubMed PMID: 24462734.
74. Ghebeh H, Al-Khalidi S, Olabi S, Al-Dhfyhan A, Al-Mohanna F, Barnawi R, et al. Fascin is involved in the chemotherapeutic resistance of breast cancer cells predominantly via the PI3K/Akt pathway. *Br J Cancer*. 14 de octubre de 2014;111(8):1552-61. doi:10.1038/bjc.2014.453 PubMed PMID: 25117814.
75. Villari G, Jayo A, Zanet J, Fitch B, Serrels B, Frame M, et al. A direct interaction between fascin and microtubules contributes to adhesion dynamics and cell migration. *J Cell Sci*. 2015;128(24):4601-14. doi:10.1242/jcs.175760 PubMed PMID: 26542021.
76. Barnawi R, Al-Khalidi S, Colak D, Tulbah A, Al-Tweigeri T, Fallatah M, et al. β 1 Integrin is essential for fascin-mediated breast cancer stem cell function and disease progression. *Int J Cancer*. 1 de agosto de 2019;145(3):830-41. doi:10.1002/ijc.32183 PubMed PMID: 30719702.
77. Zhang Y, Lu Y, Zhang C, Huang D, Wu W, Zhang Y, et al. FSCN-1 increases doxorubicin resistance in hepatocellular carcinoma through promotion of epithelial-mesenchymal transition. *Int J Oncol*. 1 de mayo de 2018;52(5):1455-64. doi:10.3892/ijo.2018.4327 PubMed PMID: 29568938.
78. Pan Y, Chen J, Tao L, Zhang K, Wang R, Chu X, et al. Long noncoding RNA ROR regulates chemoresistance in docetaxel-resistant lung adenocarcinoma cells via epithelial mesenchymal transition pathway.

Oncotarget [Internet]. 2017. Report. Disponible en: www.impactjournals.com/oncotarget/

79. Liu H, Zhang Y, Li L, Cao J, Guo Y, Wu Y, et al. Fascin actin-bundling protein 1 in human cancer: promising biomarker or therapeutic target? *Molecular Therapy Oncolytics*. Cell Press; 2021. p. 240-64. doi:10.1016/j.omto.2020.12.014 PubMed PMID: 33614909.

80. Li X, Han X, Wei P, Yang J, Sun J. Knockdown of lncRNA CCAT1 enhances sensitivity of paclitaxel in prostate cancer via regulating miR-24-3p and FSCN1. *Cancer Biol Ther*. 3 de mayo de 2020;21(5):452-62. doi:10.1080/15384047.2020.1727700 PubMed PMID: 32089062.

81. Gao D, Vela I, Sboner A, Iaquinta PJ, Karthaus WR, Gopalan A, et al. Organoid cultures derived from patients with advanced prostate cancer. *Cell*. 25 de septiembre de 2014;159(1):176-87. doi:10.1016/j.cell.2014.08.016 PubMed PMID: 25201530.

82. Sachs N, de Ligt J, Kopper O, Gogola E, Bounova G, Weeber F, et al. A Living Biobank of Breast Cancer Organoids Captures Disease Heterogeneity. *Cell*. 11 de enero de 2018;172(1-2):373-386.e10. doi:10.1016/j.cell.2017.11.010 PubMed PMID: 29224780.

83. Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*. 30 de mayo de 2008;133(5):775-87. doi:10.1016/j.cell.2008.05.009 PubMed PMID: 18510923.

84. Yang H, Zhang Z, Li J, Wang K, Zhu W, Zeng Y. The Dual Role of B Cells in the Tumor Microenvironment: Implications for Cancer Immunology and Therapy. *Int J Mol Sci*. 4 de noviembre de 2024;25(21). doi:10.3390/ijms252111825 PubMed PMID: 39519376.

85. Mantovani A, Biswas SK, Galdiero MR, Sica A, Locati M. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. *J Pathol*. enero de 2013;229(2):176-85. doi:10.1002/path.4133 PubMed PMID: 23096265.

86. Luo J, Xiang X, Gong G, Jiang L. Cancer-associated fibroblast-mediated immune evasion: molecular mechanisms of stromal-immune crosstalk in the tumor microenvironment. *Front Immunol*.

2025;16:1617662. doi:10.3389/fimmu.2025.1617662 PubMed PMID: 40934009.

87. Desbois M, Wang Y. Cancer-associated fibroblasts: Key players in shaping the tumor immune microenvironment. *Immunol Rev.* julio de 2021;302(1):241-58. doi:10.1111/imr.12982 PubMed PMID: 34075584.

88. Öhlund D, Handly-Santana A, Biffi G, Elyada E, Almeida AS, Ponz-Sarvise M, et al. Distinct populations of inflammatory fibroblasts and myofibroblasts in pancreatic cancer. *J Exp Med.* 6 de marzo de 2017;214(3):579-96. doi:10.1084/jem.20162024 PubMed PMID: 28232471.

89. Armulik A, Genové G, Betsholtz C. Pericytes: developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises. *Dev Cell.* 16 de agosto de 2011;21(2):193-215. doi:10.1016/j.devcel.2011.07.001 PubMed PMID: 21839917.

90. Naranjo TÁ, Noguera-Salvá R, Guerrero FF. La matriz extracelular: Morfología, función y biotensegridad (parte I). *Revista Espanola de Patologia.* 1 de octubre de 2009;42(4):249-61. doi:10.1016/S1699-8855(09)70192-8

91. Lee JJ, Ng KY, Bakhtiar A. Extracellular matrix: unlocking new avenues in cancer treatment. *Biomarker Research* 2025 13:1. 27 de mayo de 2025;13(1):78-. doi:10.1186/S40364-025-00757-3

92. Thiery JP, Acloque H, Huang RYJ, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell.* 25 de noviembre de 2009;139(5):871-90. doi:10.1016/j.cell.2009.11.007 PubMed PMID: 19945376.

93. Niland S, Riscanevo AX, Eble JA. Matrix Metalloproteinases Shape the Tumor Microenvironment in Cancer Progression. *Int J Mol Sci.* 23 de diciembre de 2021;23(1). doi:10.3390/ijms23010146 PubMed PMID: 35008569.

94. Moustakas A, Heldin P. TGF β and matrix-regulated epithelial to mesenchymal transition. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2014;1840(8):2621-34. doi:10.1016/j.bbagen.2014.02.004 PubMed PMID: 24561266.

95. Provenzano PP, Inman DR, Eliceiri KW, Knittel JG, Yan L, Rueden CT, et al. Collagen density promotes mammary tumor initiation and progression. *BMC Med.* 23 de abril de 2008;6. doi:10.1186/1741-7015-6-11 PubMed PMID: 18442412.
96. Sarrió D, Rodríguez-Pinilla SM, Hardisson D, Cano A, Moreno-Bueno G, Palacios J. Epithelial-mesenchymal transition in breast cancer relates to the basal-like phenotype. *Cancer Res.* 15 de febrero de 2008;68(4):989-97. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-2017 PubMed PMID: 18281472.
97. Le Du F, Moati E, Vaflard P, Bailleux C, Pierga JY, Dieras V. [Triple negative breast cancer: Current status and perspectives]. *Bull Cancer.* enero de 2025;112(1):82-99. doi:10.1016/j.bulcan.2024.09.002 PubMed PMID: 39510910.
98. Rajamanickam S, Panneerdoss S, Gorthi A, Timilsina S, Onyeagucha B, Kovalskyy D, et al. Inhibition of FoxM1-Mediated DNA Repair by Imipramine Blue Suppresses Breast Cancer Growth and Metastasis. *Clin Cancer Res.* 15 de julio de 2016;22(14):3524-36. doi:10.1158/1078-0432.CCR-15-2535 PubMed PMID: 26927663.
99. Liu Z, Hu S, Zhao X, Xu W, Ju F, Gu M, et al. AKAP12 positive fibroblast determines immunosuppressive contexture and immunotherapy response in patients with TNBC by promoting macrophage M2 polarization. *J Immunother Cancer.* 23 de octubre de 2024;12(10). doi:10.1136/jitc-2024-009877 PubMed PMID: 39448199.
100. Zhang WL, Fan HY, Chen BJ, Wang HF, Pang X, Li M, et al. Cancer-associated fibroblasts-derived CXCL1 activates DEC2-mediated dormancy in oral squamous cell carcinoma. *Heliyon.* 30 de octubre de 2024;10(20):e39133. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e39133 PubMed PMID: 39469703.
101. Chen Y, Zhu S, Yang L, Lu Y, Ye X. Cancer-associated Fibroblasts (CAFs) Regulate Lung Cancer Malignant Progression by Transferring SERPINE2 (PN1) Via Exosomes. *Curr Mol Med.* 25 de octubre de 2024. doi:10.2174/0115665240289093240109062852 PubMed PMID: 39473098.

102. Miyamoto T, Haruki T, Makishima K, Matsui S, Oshima Y, Umekita Y, et al. The prognostic implications of podoplanin in cancer-associated fibroblasts and PD-L1 expression in high-grade neuroendocrine carcinoma of the lung. *Thorac Cancer*. diciembre de 2024;15(36):2519-29. doi:10.1111/1759-7714.15477 PubMed PMID: 39487962.
103. Hashmi AA, Hashmi KA, Irfan M, Khan SM, Edhi MM, Ali JP, et al. Ki67 index in intrinsic breast cancer subtypes and its association with prognostic parameters. *BMC Res Notes*. 23 de septiembre de 2019;12(1). doi:10.1186/s13104-019-4653-x PubMed PMID: 31547858.
104. Conesa-Zamora P, García-Solano J, García-García F, Turpin MDC, Trujillo-Santos J, Torres-Moreno D, et al. Expression profiling shows differential molecular pathways and provides potential new diagnostic biomarkers for colorectal serrated adenocarcinoma. *Int J Cancer*. 15 de enero de 2013;132(2):297-307. doi:10.1002/ijc.27674 PubMed PMID: 22696308.
105. García-Solano J, García-Solano ME, Torres-Moreno D, Carbonell P, Trujillo-Santos J, Pérez-Guillermo M, et al. Biomarkers for the identification of precursor polyps of colorectal serrated adenocarcinomas. *Cellular Oncology*. 1 de junio de 2016;39(3):243-52. doi:10.1007/s13402-016-0269-5 PubMed PMID: 26832730.
106. Abbasi A, Noroozinia F, Anvar S, Abbasi MA, Hosseinzadeh S, Mokhtari SAS. Fascin overexpression is associated with higher grades of breast cancer. *Polish Journal of Pathology*. 2019;70(4):264-8. doi:10.5114/pjp.2019.93128 PubMed PMID: 32146795.
107. Gomaa W, Al-Maghrabi H, Al-Attas M, Al-Ghamdi F, Al-Maghrabi J. Fascin expression in urinary bladder urothelial carcinoma correlates with unfavourable prognosis. *Int J Clin Exp Pathol [Internet]*. 2019. Report. Disponible en: www.ijcep.com/
108. Yamada Y, Kurata A, Fujita K, Kuroda M. Fascin as a useful marker for cancer-associated fibroblasts in invasive lung adenocarcinoma. *Medicine (United States)*. 3 de septiembre de 2021;100(35):E27162. doi:10.1097/MD.00000000000027162 PubMed PMID: 34477172.

109. Magaki S, Hojat SA, Wei B, So A, Yong WH. An introduction to the performance of immunohistochemistry. En: *Methods in Molecular Biology*. Humana Press Inc.; 2019. p. 289-98. doi:10.1007/978-1-4939-8935-5_25 PubMed PMID: 30539453.
110. Buchwalow I, Samoilova V, Boecker W, Tiemann M. Non-specific binding of antibodies in immunohistochemistry: Fallacies and facts. *Sci Rep*. 2011;1. doi:10.1038/srep00028 PubMed PMID: 22355547.
111. Bray NL, Pimentel H, Melsted P, Pachter L. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nat Biotechnol*. mayo de 2016;34(5):525-7. doi:10.1038/nbt.3519 PubMed PMID: 27043002.
112. Powell DR. D. I. R. analysis. *Degust: interactive RNA-seq analysis*. 2015.
113. Menyhart O, Weltz B, Gyorffy B. MultipleTesting.com: A tool for life science researchers for multiple hypothesis testing correction. *PLoS One*. 1 de junio de 2021;16(6). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0245824 PubMed PMID: 34106935.
114. Sarantelli E, Mourkakis A, Zacharia LC, Stylianou A, Gkretsi V. Fascin-1 in Cancer Cell Metastasis: Old Target-New Insights. *Int J Mol Sci*. 8 de julio de 2023;24(14). doi:10.3390/ijms241411253 PubMed PMID: 37511011.
115. Lin S, Taylor MD, Singh PK, Yang S. How does fascin promote cancer metastasis? *FEBS Journal*. Blackwell Publishing Ltd; 2021. p. 1434-46. doi:10.1111/febs.15484 PubMed PMID: 32657526.
116. Wang CQ, Tang CH, Chang HT, Li XN, Zhao YM, Su CM, et al. Fascin-1 as a novel diagnostic marker of triple-negative breast cancer. *Cancer Med*. 1 de agosto de 2016;5(8):1983-8. doi:10.1002/cam4.746 PubMed PMID: 27184764.
117. Lee HJ, An HJ, Kim TH, Kim G, Kang H, Heo JH, et al. Fascin expression is inversely correlated with breast cancer metastasis suppressor 1 and predicts a worse survival outcome in node-negative breast cancer patients. *J Cancer*. 2017;8(16):3122-9. doi:10.7150/jca.22046 PubMed PMID: 29158783.

118. Oladeru O, Rajack F, Esnakula A, Naab TJ, Kanaan Y, Ricks-Santi L. Beyond Triple-Negative: High Prevalence of Quadruple-Negative Breast Cancer in African Americans. *Biomedicines*. 1 de julio de 2024;12(7). doi:10.3390/biomedicines12071522
119. Tampaki EC, Tampakis A, Nonni A, von Flüe M, Patsouris E, Kontzoglou K, et al. Combined Fascin-1 and MAP17 Expression in Breast Cancer Identifies Patients with High Risk for Disease Recurrence. *Mol Diagn Ther*. octubre de 2019;23(5):635-44. doi:10.1007/s40291-019-00411-3 PubMed PMID: 31273628.
120. Wang HJ, Jiang YP, Zhang JY, Tang XQ, Lou JS, Huang XY. Roles of Fascin in Dendritic Cells. *Cancers (Basel)*. 20 de julio de 2023;15(14). doi:10.3390/cancers15143691 PubMed PMID: 37509352.
121. Esnakula AK, Ricks-Santi L, Kwagyan J, Kanaan YM, DeWitty RL, Wilson LL, et al. Strong association of fascin expression with triple negative breast cancer and basal-like phenotype in African-American women. *J Clin Pathol*. febrero de 2014;67(2):153-60. doi:10.1136/jclinpath-2013-201698 PubMed PMID: 23986556.
122. Izdebska M, Zielińska W, Krajewski A, Grzanka A. Fascin in migration and metastasis of breast cancer cells - A review. *Adv Med Sci*. septiembre de 2023;68(2):290-7. doi:10.1016/j.advms.2023.08.003 PubMed PMID: 37660543.
123. Rogers S, Zhang C, Anagnostidis V, Liddle C, Fishel ML, Gielen F, et al. Cancer-associated fibroblasts influence Wnt/PCP signaling in gastric cancer cells by cytoneme-based dissemination of ROR2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 26 de septiembre de 2023;120(39):e2217612120. doi:10.1073/pnas.2217612120 PubMed PMID: 37722040.
124. Zhang X, Cho IH, Park JH, Lee MK, Hwang YS. Fascin is involved in cancer cell invasion and is regulated by stromal factors. *Oncol Rep*. 1 de enero de 2019;41(1):465-74. doi:10.3892/or.2018.6847 PubMed PMID: 30542700.
125. Yang D, Liu J, Qian H, Zhuang Q. Cancer-associated fibroblasts: from basic science to anticancer therapy. *Exp Mol Med*. julio de

CAPÍTULO IX – REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

2023;55(7):1322-32. doi:10.1038/s12276-023-01013-0 PubMed PMID: 37394578.

126. Uhlén M, Fagerberg L, Hallström BM, Lindskog C, Oksvold P, Mardinoglu A, et al. Tissue-based map of the human proteome. *Science* (1979). 23 de enero de 2015;347(6220). doi:10.1126/science.1260419 PubMed PMID: 25613900.

127. Timilsina S, Rajamanickam S, Rao A, Subbarayalu P, Nirzhor S, Abdelfattah N, et al. The antidepressant imipramine inhibits breast cancer growth by targeting estrogen receptor signaling and DNA repair events. *Cancer Lett.* 1 de agosto de 2022;540:215717. doi:10.1016/j.canlet.2022.215717 PubMed PMID: 35568265.

128. Asensi-Cantó A, Rodríguez-Braun E, Beltrán-Videla A, Hurtado AM, Conesa-Zamora P. Effects of imipramine on cancer patients over-expressing Fascin1; description of the HITCLIF clinical trial. *Front Oncol.* 2023;13. doi:10.3389/fonc.2023.1238464 PubMed PMID: 37841433.

129. Sajjadi E, Guerini-Rocco E, De Camilli E, Pala O, Mazzarol G, Venetis K, et al. Pathological identification of HER2-low breast cancer: Tips, tricks, and troubleshooting for the optimal test. *Front Mol Biosci.* 2023;10. doi:10.3389/fmolb.2023.1176309 PubMed PMID: 37077201.

130. Jansen S, Collins A, Yang C, Rebowski G, Svitkina T, Dominguez R. Mechanism of actin filament bundling by fascin. *Journal of Biological Chemistry.* 26 de agosto de 2011;286(34):30087-96. doi:10.1074/jbc.M111.251439 PubMed PMID: 21685497.

131. Joyce JA, Pollard JW. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer.* abril de 2009;9(4):239-52. doi:10.1038/nrc2618 PubMed PMID: 19279573.

132. Pérez-Parra D, Postigo-Corrales F, Cruz AF, Sánchez-Espinosa A, Acosta-Ortega J, Carrillo-Vicente R, et al. Characterization and Prognostic Impact of Fascin Expression in the Tumor Microenvironment of Triple-Negative Breast Cancer: Clues for a Tailored Therapy. *Laboratory Investigation.* febrero de 2026;106(2):104268. doi:10.1016/j.labinv.2025.104268 PubMed PMID: 41319754.

X – ANEXOS



Research Article

Characterization and Prognostic Impact of Fascin Expression in the Tumor Microenvironment of Triple-Negative Breast Cancer: Clues for a Tailored Therapy

David Pérez-Parra^{a,b,c}, Fátima Postigo-Corrales^{b,c}, Andreia-Filipa Cruz^b,
Alberto Sánchez-Espinosa^{a,b,c}, Jesús Acosta-Ortega^c, Raúl Carrillo-Vicente^d,
María Dolores López-Abellán^{a,c}, Pablo Conesa-Zamora^{a,b,e,*}, Ginés Luengo-Gil^{a,b,c,*},
Ana María Hurtado-López^{b,c,*}

^a Group of Molecular Pathology and Pharmacogenetics, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria, Hospital Universitario Santa Lucía, Cartagena, Spain; ^b Group of Genetics, Molecular Pathology and Rare Diseases, Health Sciences Faculty, Universidad Católica de Murcia, Guadalupe, Spain; ^c Pathology Department, Hospital General Universitario Santa Lucía, Cartagena, Spain; ^d Medical Oncology Department, Hospital General Universitario Santa Lucía, Cartagena, Spain; ^e Clinical Analysis Department, Hospital General Universitario Santa Lucía, Cartagena, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 25 March 2025

Revised 13 November 2025

Accepted 22 November 2025

Available online 29 November 2025

Keywords:

fascin

FSCN1

imipramine

triple-negative breast cancer

tumor microenvironment

ABSTRACT

Triple-negative breast cancer (TNBC) represents 10% to 15% of all cases with breast cancer, predominantly affecting younger women. Due to the absence of hormone receptors and human epidermal growth factor receptor 2 expression, TNBC lacks effective targeted therapies, resulting in poor prognosis, with 5-year survival rates ranging from 91% for localized disease to 12% for metastatic disease. Fascin, encoded by the *FSCN1* gene, is overexpressed in 88% of cases with TNBC and promotes tumor invasion, metastasis, and chemotherapy resistance. This study explored fascin as a prognostic marker and therapeutic target by analyzing its expression in the largest TNBC cohort to date and by assessing the effects of imipramine, an antidepressant that acts as a fascin inhibitor, on TNBC and luminal breast cancer cell lines. In a retrospective cohort of 145 patients with TNBC, fascin expression in tumor cells and stromal myofibroblasts correlated with high histological grade, Ki67 >30%, and BCL-2 overexpression in myofibroblasts, as well as with higher chemotherapeutic response rates in the surgical setting. Fascin expression in stromal myofibroblasts has been identified as an independent predictive marker of chemotherapeutic response and as a prognostic factor for improved survival in patients undergoing neoadjuvant chemotherapy. In vitro, imipramine significantly reduced *FSCN1* expression and impaired cell migration in TNBC (MDA-MB-231) and luminal (MCF7) cell lines, with stronger effects on TNBC. These findings highlight the dual role of fascin in tumor cells and the tumor microenvironment and reinforce its potential as a biomarker for personalized TNBC therapies. Ongoing clinical trials, including histological and clinical effects of imipramine in the treatment of patients with cancer overexpressing fascin1 (HITCLIF), are exploring the efficacy of imipramine in patients with fascin-overexpressing cancers, paving the way for targeted treatment strategies.

© 2025 THE AUTHORS. Published by Elsevier Inc. on behalf of the United States & Canadian Academy of Pathology. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

These authors contributed equally: David Pérez-Parra and Fátima Postigo-Corrales.

* Corresponding authors. (A.M.H. Lopez, G.L. Gil, and P. Conesa-Zamora)

E-mail addresses: amhurtado@ucam.edu (A.M. Hurtado-López), gluengo@ucam.edu (G. Luengo-Gil), pconesa@ucam.edu (P. Conesa-Zamora).



Introduction

Triple-negative breast cancer (TNBC), which represents 10% to 15% of all cases with breast cancer, predominantly affects women younger than 40 years and is associated with a poor prognosis. TNBC is a heterogeneous group of breast cancers that includes several genetic mutations and even epigenetic alterations.^{1,2} Due to the lack of molecular targets and the absence of estrogen receptor, progesterone receptor, and human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) expression, systemic chemotherapy remains the standard treatment. However, response rates vary significantly among patients. The 5-year relative survival rates for TNBC range from 91% for localized disease, 65% for advanced disease, to 12% for metastatic disease.³ These challenges underscore the need to identify novel biomarkers and therapeutic targets for TNBC.

The metastatic process in TNBC is highly complex and not fully understood. It involves genetic and epigenetic alterations, angiogenesis, tumor-stroma interactions, epithelial-mesenchymal transition mechanisms, intravasation through the basement membrane, survival in the bloodstream, and extravasation into distant tissues.^{4,5} Fascin, a key protein encoded by the *FSCN1* gene, is overexpressed in ~88% of cases with TNBC and plays a crucial role in the formation of cellular structures, such as invadopodia, which drive tumor invasion and metastasis.⁶ However, despite the high prevalence of fascin overexpression, TNBC remains a highly heterogeneous disease, with variations in molecular subtypes and signaling pathways that may influence the response to fascin inhibition. This heterogeneity challenges the identification of cases with TNBC that are most likely to benefit from fascin-targeting therapies.

Fascin overexpression is associated with a poor prognosis in various types of tumors,^{7–12} including TNBC.¹³ Fascin plays a critical role in several mechanisms that contribute to tumor progression, such as chemotherapy resistance, metabolic reprogramming, stemness activity, and immune evasion.¹⁴ Therefore, fascin may be a promising therapeutic target. Recent studies have shown a synergistic effect between the fascin inhibitor NP-G2-044 and the immune checkpoint inhibitor anti-PD1, demonstrating that fascin blockade enhances the effectiveness of cancer therapy and restores antitumor immune responses in syngeneic mouse models of TNBC and other cancers.^{9,15}

The tumor microenvironment (TME) has also garnered attention, particularly regarding the roles of fibroblasts and antigen-presenting dendritic cells.^{16,17} Fascin expression in TME cells has been studied as a potential therapeutic target to improve treatment response, offering new insights into its role in cancer progression.

Recent studies have identified additional compounds with anti-fascin and antitumoral properties, including novel agents such as monastrol and repurposed drugs such as the tricyclic antidepressant imipramine and the antiretroviral raltegravir.^{18–20} Notably, some of these compounds, including imipramine, are currently being tested in completed or ongoing clinical trials ([ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov) IDs: NCT03122444, NCT03199586, and NCT05023486²¹). The use of repurposed drugs is especially interesting, as these compounds have a well-established safety profile, are often accessible in low-resource settings, and can serve as a basis for designing analogs with increased antitumoral properties. The role of imipramine as an antitumoral and antifascin drug is preceded by observational, in silico, biophysical, biochemical, ex vivo, and in vivo studies.^{19,22}

Despite significant advances, the heterogeneity of TNBC continues to pose challenges in identifying patients who might

benefit from antifascin therapy. The primary objective of this study is to evaluate the clinical, histological, and molecular characteristics associated with tissue fascin expression in our TNBC cohort.

To date, this study represents the largest TNBC cohort in which fascin expression has been evaluated. Furthermore, we assessed the effects of imipramine on TNBC and luminal breast cancer cell lines through in vitro experiments, followed by a comprehensive RNA sequencing (RNA-Seq) analysis focused on *FSCN1* expression.

Materials and Methods

Patient and Sample Selection

A retrospective review was performed on patients with TNBC diagnosed between 2010 and 2022 in health care area 2 of the Murcia region, Spain. Clinical, histological, and outcome data were retrieved from the institutional databases. Histological samples from selected patients were obtained through core needle biopsy, vacuum-assisted biopsy, lumpectomy, mastectomy, or incidental findings during diagnostic procedures. Additionally, subsequent samples from the same patients were analyzed, including lumpectomies and mastectomies performed for therapeutic purposes, as well as biopsies conducted to determine accurate oncological staging. There were no exclusion criteria. Only cases without registered biopsies or those diagnosed outside the selected period were excluded. The study was approved by the Hospital Santa Lucía Ethics Committee, in compliance with Spanish regulations. Tissue samples were utilized without compromising quantity or quality for future evaluation.

Data Collection

Biological, oncological, and prognostic variables were collected using the CGM SELENE electronic medical record system (2020 CompuGroup Medical). Oncological variables were classified according to the American Joint Committee on Cancer (AJCC), Eighth Edition.²³ Earlier stages were reclassified based on the updated criteria and available data. The new prognostic stage classification of this edition was taken into account to classify the cases.

Tumor histological parameters were retrieved using the PAT-Win software tool (1997–2023 Dedalus). Immunohistochemistry tests performed on breast tissue in the recent years were used as search criteria. Additional parameters relevant to histological classification and prognostic significance, such as quantitative assessments of HER2,^{24,25} Ki67,^{26–28} p53,²⁹ and BCL-2,²⁹ were also analyzed.

To assess the histological response to treatment, the AJCC classification (ypTNM) and Miller-Payne grades³⁰ were employed and extracted from PAT-Win, ypTON0, or Miller-Payne grade 5 were considered as complete histological response. In cases where information was missing, an expert pathologist (J.A.O.) reevaluated the available samples, and the data were recorded in the pathology report.

Tissue Microarray Construction

Tissue microarrays (TMAs) are a practical approach for simultaneously obtaining data from various tissues, enhancing

sample representativity, and increasing the reproducibility of each assay.

First, the relevant material was fixed in formalin and embedded in paraffin, and hematoxylin-stained histological slides were used to identify the most representative areas of the tissue sections. Based on this analysis, the regions of interest were marked, and punches were positioned using the XY adjustment knobs of the device, ensuring the integrity of each sample and the accurate analysis of measurements. To this end, in the selected samples, any areas potentially displaying reactive changes or other artifacts that might interfere with immunohistochemical expression were systematically excluded.

The marked areas were then extracted in the form of cores 2 mm in diameter each and assembled into a single paraffin block, maintaining a 2 mm distance between the holes and organizing 16 samples per TMA, with a 1 mm spacing between the paraffin edge and the first punch site. Each hole was perforated to a depth of 5 mm, and the punch was inserted as far as possible into the block. Throughout the process, a detailed template was maintained to record the location of each sample within the TMA, ensuring traceability and proper sample organization.

Analysis of Fascin in Paraffin-Embedded Tissue

For the evaluation of fascin immunohistochemical expression, a previous study by Dr Conesa-Zamora was used as a reference.^{31,32} TMAs were automatically stained for fascin using the rabbit recombinant monoclonal antifascin antibody (clone EP5902; Abcam, catalog number: ab126772), designated for research use only, and the ultraView Universal DAB Detection Kit (Ventana-Roche, catalog number: 760-500). Tissues were processed with 36 minutes of antigen retrieval (pH = 9) followed by 32 minutes of incubation with recombinant antifascin antibody (EP5902). Immunohistochemical assessments were performed using an optical microscope (ZEISS AxioScope). The cases were examined jointly by 2 pathologists. One of whom is an expert in the evaluation of fascin expression in colorectal cancer with the examiners blinded to the clinical characteristics. The variables recorded included the percentage and intensity of fascin expression within the tumor, peritumoral stroma, and predominant inflammatory infiltrate, along with the overall predominance and distribution of expression. Vessels from the tested tissues served as positive controls (intense staining).

Staining in tumor cells was evaluated using ordinal categories for percentage (“<1%,” “1%-50%,” “>50%-75%,” and “>75%”) and intensity (“none,” “weak,” “moderate,” and “strong”). Staining in peritumoral myofibroblasts was categorized as “0% to 33%,” “>33% to 66%,” and “>66%.” These categories were converted into numerical values for statistical analysis while preserving their qualitative nature. The staining percentage of tumor cells was scored from 0 to 3, the intensity from 0 to 3, and the staining of peritumoral myofibroblasts from 1 to 3. In tumor cells, if the score was double 0 (no staining of any intensity), it was transformed to 1 to avoid the jump between score 0 and 2 (weak staining of 1%-50% of tumor cells). For statistical analysis, the tumor cell score ranges from 1 to 6.

For qualitative analysis, any degree of staining in tumor cells (regardless of intensity or percentage) was considered positive, as previously described.^{33,34} For peritumoral myofibroblasts, a cutoff point was used based on literature to consider staining as positive.³⁵⁻³⁷ In this study, a cutoff point of >33% was established by consensus among observers, as it showed the highest inter-observer agreement. Cases with >33% of positively stained

myofibroblasts were scored as positive, whereas those with 0% to 33% were scored as negative, given that no standardized cutoff values were found in the literature for fascin evaluation in breast cancer.

To determine fascin-positive stromal cells morphologically compatible with myofibroblasts, additional immunohistochemical stainings were performed, including smooth muscle actin (1A4 Antibody, ultraView DAB Kit; Ventana-Roche; reference: 760-2833), CD44 (SP37 Antibody, ultraView Kit; Cell Marque, Sigma-Aldrich, reference: 144M-98), CD163 (MRQ-26 Antibody, ultraView DAB Kit; Ventana-Roche, reference: 760-4437), and CD1a (EP3622 Antibody, ultraView DAB Kit; Ventana-Roche, reference: 760-4525).

Cell Lines, Viability, Migration Assay, and Treatment Effects

Two human breast cancer cell lines (MDA-MB-231, as a TNBC model, and MCF7, as a luminal model) were purchased from the American Type Culture Collection and cultured at 37 °C in high-glucose Dulbecco's modified Eagle's medium supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum and 50 µg/mL gentamicin (Thermo Fisher, catalog number: 15750037) in an atmosphere of 5% CO₂ and 95% humidified air.

Cell viability assays were performed to evaluate the effects of imipramine in both cell lines. For MDA-MB-231, 30,000 cells/well were seeded in quintuplicate in 24-well plates and incubated at 37 °C in a humidified atmosphere with 5% CO₂. The following day, the cells were treated with imipramine at concentrations ranging from 0.1 to 1000 µM (diluted in nuclease-free water). The control wells contained medium without drug and RNA-free water. After 72 hours of treatment, cell viability was evaluated using the Countess 3 FL Automated Cell Counter (Invitrogen; catalog number: AMQAF2000) with Trypan Blue.

MCF7 cells were plated in quintuplicate in flat-bottomed 96-well plates (Nunc) at 1500 cells/well and incubated at 37 °C in a humidified atmosphere with 5% CO₂. The following day, cells were treated with imipramine ranging from 0.1 to 1000 µM. After 72 hours of treatment, cell viability was evaluated by adding 50 µL of activated XTT solution (Biotium, VWR, catalog number: 30007) to each well. Plates were incubated at 37 °C for 4 hours, and absorbance at 450 nm was measured by background subtraction at 630 nm using a Spectramax ID3 plate reader (Molecular Devices, VWR). The half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) was calculated using GraphPad Prism software (version 8.0).

Cell migration activity in response to imipramine was evaluated using a scratch wound healing assay, with all experimental conditions conducted in triplicate. Four-well culture inserts (Ibidi; reference: 80469) were placed in 12-well adherent plates (VWR, Avantor), and 40,000 cells were seeded per quadrant. After 24 hours, once the quadrants were fully populated with attached cells, the inserts were removed, and the wells were washed with Dulbecco's phosphate-buffered saline (Gibco, Thermo Fisher Scientific).

For migration assays, imipramine doses were selected relative to the IC₅₀ values previously established for each cell line. Concentrations spanning below and above the IC₅₀ were applied to capture dose-dependent effects on migratory capacity and to ensure comparability between models with distinct drug sensitivities.

For the MDA-MB-231 cell line, imipramine was tested at concentrations of 10, 20, and 30 µM, whereas for the MCF7 cell line, concentrations of 10, 15, and 20 µM were used. Untreated

controls were included in both cell lines to serve as the baseline. Images of 6 fields within the wound area were captured at 0, 8, and 24 hours after treatment, using an inverted microscope at $\times 10$ magnification. The uncovered area was quantified using the ImageJ software (version 1.54d; [ImageJ](#)).

RNA Sequencing and Data Analysis

Both cell lines were seeded in 6-well plates at a density of 100,000 cells per well in sextuplicate and treated with imipramine at 20 μM for MDA-MB-231 cells and 15 μM for MCF7 cells. Cells were collected after 24, 48, and 72 hours (with or without treatment) using 800 μL of TRIzol Reagent (Thermo Fisher Scientific).

Total RNA was extracted using the Direct-zol RNA MiniPrep kit (Zymo Research; catalog number: R2050). From the original sextuplicate samples, only 5 per condition were sequenced, as the sample with the poorest RNA quality was excluded. RNA-Seq was performed at the Genomics Department of the Institute of Biomedicine in Murcia, using the Illumina NextSeq 2000 platform. A total of 1000 ng of RNA per sample was used for library preparation using the Illumina Stranded mRNA Prep Kit following the manufacturer's instructions. Briefly, oligo(dT) magnetic beads were used to purify and capture mRNA molecules containing polyA tails. Purified mRNA was fragmented and reverse transcribed into the first strand of complementary DNA using random primers. In the second-strand complementary DNA synthesis step, dUTP replaced dTTP to achieve strand specificity. In the final steps, adenine (A) and thymine (T) bases are added to the ends of the fragments, and adapters are attached. The resulting products were purified and selectively amplified for sequencing using the Illumina system.

The generated libraries were sequenced on the NextSeq 2000 platform (Illumina), producing paired-end reads using the NextSeq 2000 P3 Reagent cartridge (200-cycle). FASTQ files of those experiments were deposited in ArrayExpress under accession number E-MTAB-1535. RNA-Seq data were processed to quantify transcript abundance using Kallisto.³⁸ Differential expression analysis was performed using the Degust.³⁹

Statistical Analysis

All statistical analyses were performed using SPSS software 21.0 (SPSS, Inc). Odds ratios (ORs) and hazard ratios (HRs) were used to assess the strength of association with binary outcomes and time-to-event (survival) outcomes, respectively. For group comparisons of quantitative variables, nonparametric tests, such as the Mann-Whitney *U*-test, Fisher exact test, and Kruskal-Wallis test, were applied. Proportions were compared using the χ^2 test. Variables with statistically significant results in the χ^2 test were further analyzed using binary logistic regression to predict complete response, from which the corresponding ORs and 95% CIs were derived.

For univariate survival analyses, the Kaplan-Meier method was used, and differences between groups were assessed with the log-rank test. HRs and their 95% CIs were estimated using univariate and multivariate Cox proportional hazards models.

All tests were 2-sided, and a *P* value of $\leq .05$ was considered statistically significant. To control for false positives arising from multiple comparisons, we applied a false discovery rate correction using the tool described by Menyhart et al.⁴⁰ This tool computes false discovery rate-adjusted *q* values from raw 2-

sided *P* values. Unless otherwise specified, results were considered statistically significant at $q < 0.05$.

The association of fascin staining with clinical, oncologic, prognostic, and predictive variables was analyzed in both the initial biopsy and surgical specimens. However, its association with histological and molecular variables was studied exclusively in the initial biopsy since immunohistochemical determinations were performed on these samples.

Results

Cohort Characterization

This study included 145 female patients with TNBC, with a mean age of 58.7 (range, 25–94) years at diagnosis. Among these patients, 9 cases were bilateral. Histologically, 116 cases (80%) were classified as not otherwise specified subtype, 17 as medullary-like carcinomas (11.7%), 3 as metaplastic carcinomas (2.1%), 5 as apocrine carcinomas (3.4%), 2 as lobular carcinomas (1.4%), and 2 as adenoid cystic carcinomas (1.4%). Patients were not selected by race. Regarding histological grade, 1 case was grade 1 (0.7%), 33 cases were grade 2 (22.7%), and 108 cases were grade 3 (74.5%). The histological grade was not specified in 3 cases (2.1%).

The stage, along with the T and N categories at diagnosis, is detailed in [Table 1](#) according to the Eighth Edition of the AJCC classification.²³ Cases that received neoadjuvant therapy are reported using the clinical TNM, whereas those that did not receive neoadjuvant therapy are reported using the pathological TNM.

Notably, no cases were classified as prognostic stage 1. TNBC is considered, according to the latest AJCC classification referenced, to be at least prognostic stage 2.²³

Given the significant impact of neoadjuvant therapy on the biological behavior of the studied samples and patient prognosis, it is essential to differentiate between those who received this treatment and those who did not. In our cohort of 145 patients, 64 received neoadjuvant therapy. [Table 2](#) summarizes the key prognostic and predictive variables, including surgical intervention, presence of tumor in the surgical specimen, and complete histological response in patients who underwent neoadjuvant treatment. Additionally, it details axillary pathological staging (including the presence and type), extracapsular nodal tumor extension, progression events, the need for reintervention, non-nodal distant metastasis, and overall mortality, according to neoadjuvant treatment status.

Regarding the samples available for tumor tissue analysis in the cohort, 139 initial diagnostic biopsies and 132 surgical specimens were available, of which 100 surgical specimens contained infiltrating tumors. Both the initial biopsy and the corresponding surgical specimen were available in 126 cases, with infiltrating tumors present in 95 of them. Infiltrating tumor tissue was consistently available in all initial biopsies ([Table 3](#)).

Among the patients who received neoadjuvant chemotherapy, 62 initial biopsies, 30 surgical biopsies with infiltrating tumors, and both types of tumor samples were available in 29 cases. For patients without neoadjuvant chemotherapy, 77 initial biopsies, 70 surgical biopsies with infiltrating tumors, and both types of specimens were available for 66 cases ([Table 3](#)).

Characterization of Fascin-Positive Stromal Cells

Immunohistochemical analysis confirmed the presence of stromal cells morphologically and immunohistochemically consistent with myofibroblasts, with positive expression of

Table 1

Prognostic and predictive variables of the patient cohort

Variable	Neoadjuvant treatment		No Neoadjuvant treatment		Total	
	Mean N	(Max-min) %	Mean N	(Max-min) %	Mean N	(Max-min) %
Age (y)	53.1	25-83	63.1	25-94	58.7	25-94
Sex						
Female	64	100.0%	81	100.0%	145	100.0%
Male	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
Laterality						
One-sided	60	93.8%	76	93.8%	136	93.8%
Bilateral	4	6.2%	5	6.2%	9	6.2%
Histological subtype						
NOS	56	87.5%	60	74.1%	116	80.0%
Medullary-like	6	9.4%	11	13.6%	17	11.7%
Metaplastic	0	0.0%	3	3.7%	3	2.1%
Apocrine	1	1.6%	4	4.9%	5	3.4%
Lobular	1	1.6%	1	1.2%	2	1.4%
ACC	0	0.0%	2	2.5%	2	1.4%
Grade						
Unspecified	2	3.1%	1	1.2%	3	2.1%
1	1	1.6%	0	0.0%	1	0.7%
2	14	21.9%	19	23.5%	33	22.7%
3	47	73.4%	61	75.3%	108	74.5%
pT (surgically intervened)						
Unspecified	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
0	33	53.2%	0	0.0%	33	25.0%
1	22	35.5%	34	48.6%	56	42.4%
2	2	3.2%	28	40.0%	30	22.7%
3	3	4.8%	6	8.6%	3	6.8%
4	2	3.2%	2	2.9%	4	3.0%
Unspecified	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
pN (surgically intervened. axillary pathological staging)						
0	39	73.6%	37	56.9%	76	64.4%
1	8	15.1%	24	36.9%	32	27.1%
2	3	3.7%	3	4.6%	6	5.1%
3	3	3.7%	1	1.5%	4	3.4%
Stage (at diagnosis)						
Unspecified	7	10.9%	0	0.0%	7	4.8%
I	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
II	1	1.6%	30	37.0%	31	21.4%
III	51	79.7%	42	51.9%	93	64.1%
IV	5	7.8%	9	11.1%	14	9.7%

ACC, adenoid cystic carcinomas; NOS, not otherwise specified.

smooth muscle actin, CD44, and CD163, and negative expression of CD1a, a marker characteristic of antigen-presenting cells. The immunohistochemical profile confirmed that the fascin-positive cells corresponded to myofibroblasts rather than antigen-presenting cells (Fig. 1).

Association Between Fascin Values in the Initial Biopsy and the Surgical Specimen

To evaluate potential changes in fascin expression between the initial biopsy and the corresponding surgical specimen, and to determine whether the analysis of a single sample is representative, we assessed the correlation in fascin immunostaining between both samples.

A statistically significant correlation was observed between positive fascin staining in tumor cells from the initial biopsy and in the surgical specimen (OR, 44.54; 95% CI, 4.99-397.86; $P < .001$), primarily driven by cases without neoadjuvant therapy

(OR, 42.00; 95% CI, 4.38-402.60; $P < .001$). In contrast, no significant association was found in patients who received neoadjuvant therapy ($P = .192$). However, positive myofibroblast staining in the initial biopsy did not correlate with staining in the surgical specimen, regardless of neoadjuvant treatment.

Regarding quantitative changes after neoadjuvant chemotherapy, fascin expression in tumor cells was significantly lower in surgical specimens compared with initial biopsies (OR, 0.514; 95% CI, 0.147-0.757; $P = .007$), whereas no significant differences were observed in myofibroblasts ($P = .228$).

Association of Fascin Staining With Clinical Variables

No statistically significant associations were observed between fascin expression in tumor cells or peritumoral myofibroblasts and clinical variables, including sex, patient age, and laterality of the neoplastic lesion, in either the initial biopsy or the surgical specimen.

Table 2

Clinical and pathological characteristic of the patients included in the study

Variable		Neoadjuvant treatment		No neoadjuvant treatment		Total	
		N	%	N	%	N	%
Surgical intervention	Yes	62	96.9%	70	86.4%	132	91.0%
	No	2	3.1%	11	13.6%	13	9.0%
	Total	64		81		145	
Infiltrating tumor in breast specimen	Yes	30	48.4%	70	100.0%	100	75.8%
	No	32	51.6%	0	0.0%	32	24.2%
	Total	62		70		132	
Complete response	Yes	32	51.6%				
	No	30	48.4%				
	Total	62					
Axillary pathological staging (pN)	Yes	53	85.5%	65	92.9%	118	89.4%
	No	9	14.5%	5	7.1%	14	10.6%
	Total	62		70		132	
Six or more isolated lymph nodes in pathological staging	Yes	36	67.9%	26	40.0%	62	52.5%
	No	17	32.1%	39	60.0%	56	47.5%
	Total	53		65		118	
Extracapsular extension (≥ 6 lymph nodes)	Yes	8	22.2%	7	26.9%	15	24.2%
	No	28	77.8%	19	73.1%	47	75.8%
	Total	36		26		62	
Progression event	Yes	20	31.3%	30	37.0%	50	34.5%
	No	44	68.8%	51	63.0%	95	65.5%
	Total	64		81		145	
Reintervention	Yes	3	4.8%	3	4.3%	6	4.5%
	No	59	95.2%	67	95.7%	126	95.5%
	Total	62		70		132	
Metastasis	Yes	15	23.4%	23	28.4%	38	26.2%
	No	49	76.6%	58	71.6%	107	73.8%
	Total	64		81		145	
Deceased	Yes	16	25.0%	27	33.3%	43	29.7%
	No	48	75.0%	56	66.7%	102	70.3%
	Total	64		81		145	

Association of Fascin Staining in the Initial Biopsy With Histopathological Features

A significant statistical association was found between fascin positivity in tumor cells and high histologic grade (G3) (OR, 5.34; 95% CI, 1.397–20.408; $P = .008$). Similarly, fascin positivity in peritumoral myofibroblasts was associated with high histological grade (OR, 0.282; 95% CI, 0.091–0.878; $P = .022$).

Regarding histological subtypes, no statistically significant association was observed between fascin staining in tumor cells or myofibroblasts and the not otherwise specified subtype ($P = .969$ and $P = .240$, respectively). For the medullary-like subtype, no association was found with fascin expression in tumor cells ($P = .246$), but a significant association was observed between fascin expression in peritumoral myofibroblasts and the medullary-like histological subtype (OR, 3.862; 95% CI, 1.236–12.071; $P = .014$).

Regarding immunohistological markers, fascin positivity in tumor cells was significantly associated with Ki67 $>30\%$ (OR, 4.50; 95% CI, 1.124–18.021; $P = .023$) but not with Ki67 $>70\%$ ($P = .27$). A significant association was also observed between positive fascin staining in tumor cells and immunohistochemical HER2 “0” status (OR, 10.167; 95% CI, 1.247–82.873; $P = .009$). In contrast, no significant association was observed with p53 overexpression (p53 $>25\%$) in tumor cells ($P = .752$) or myofibroblasts ($P = .344$). Similarly, BCL-2 expression ($>10\%$) showed no significant association with fascin staining in tumor cells ($P = .243$).

Association of Fascin Staining in the Initial Biopsy With Prognostic and Predictive Variables

In the initial biopsy, high fascin expression in tumor cells was significantly and inversely associated with the presence of lymph

Table 3

Summary of available histological tissue samples

Variable	Neoadjuvant treatment, N (%)	No Neoadjuvant treatment, N (%)	Total
Patients	64 (44.14)	81 (55.86)	145
Initial biopsy	62 (44.60)	77 (55.40)	139
Breast surgical specimen biopsy	62 (46.97)	70 (53.03)	132
Infiltrating tumor in surgical specimen	30 (30.0)	70 (70.0)	100
Initial biopsy and specimen biopsy both	60 (47.62)	66 (52.38)	126
Initial biopsy and infiltrating tumor in specimen both	29 (30.53)	66 (69.47)	95

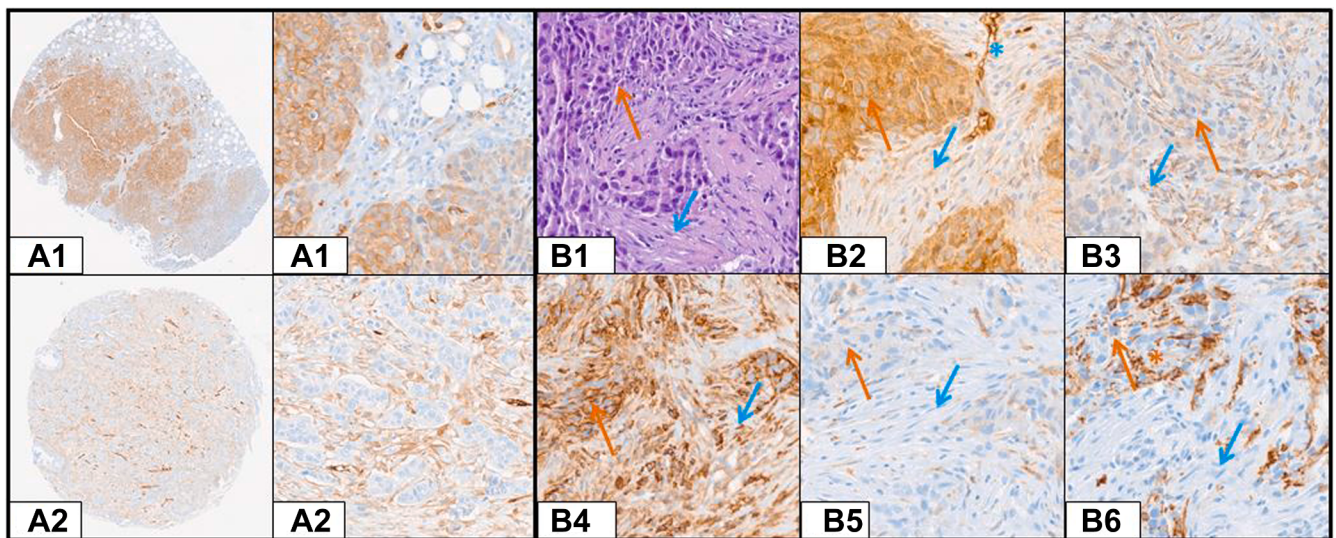


Figure 1.

Representative examples of fascin immunohistochemical staining for histological evaluation. (A) Fascin in tumor cells and peritumoral fibroblasts (fascin EP5902 $\times 10$ - $\times 40$): (A.1) Positive fascin staining in tumor cells and negative staining in peritumoral fibroblasts (<33% fibroblasts). (A.2) Negative fascin staining in tumor cells and positive staining in peritumoral fibroblasts (> 33% of fibroblasts). (B) Immunohistochemical characterization of myofibroblasts. Tumor cells are indicated with orange arrows; myofibroblasts with blue arrows. (B1) Hematoxylin and eosin staining ($\times 40$). (B2) Immunohistochemical staining with fascin (EP5902) ($\times 40$). *Vascular endothelial cells. (B3) Immunohistochemical staining with smooth muscle actin (A4) ($\times 40$). (B4) Immunohistochemical staining with CD44 (SP37) ($\times 40$). (B5) Immunohistochemical staining with CD163 (MRQ-26) ($\times 40$). (B6) Immunohistochemical staining for CD1a (EP3622) ($\times 40$). *Intratumoral cells CD1a-positive.

node metastasis (pN1 or higher) (OR, 0.224; 95% CI, 0.054-0.926; $P = .032$) and extracapsular lymph node spread (OR, 0.143; 95% CI, 0.023-0.987; $P = .0419$). No significant associations were observed with clinical stage, distant metastasis, surgical site recurrence, pT values, or response to neoadjuvant chemotherapy.

Fascin expression in peritumoral myofibroblasts was significantly associated with a histological complete response (ypTON0 and Miller-Payne grade 5) after neoadjuvant treatment (OR, 4.643; 95% CI, 1.250-17.248; $P = .022$). No associations were found with other prognostic variables, including pT, pN, or the surgical site of recurrence. None of the other variables studied was associated with a complete response; therefore, it was not possible to perform a multivariate study.

Association of Fascin Staining in the Surgical Specimen With Prognostic and Predictive Variables

No statistically significant association was observed between fascin staining in surgical specimens of tumor cells or myofibroblasts and prognostic and predictive variables in our case series (pT, pN, oncologic stage, metastasis, or recurrence).

Association of Fascin Staining With Survival Analysis

In the survival analysis of patients who did not receive neoadjuvant chemotherapy, overall survival (OS) values showed no association with fascin staining in tumor cells and myofibroblasts, either in the initial biopsy ($P = .706$ and $P = .714$, respectively) or in the surgical specimen ($P = .516$ and $P = .502$, respectively).

In the subgroup of patients who received neoadjuvant chemotherapy, OS values showed no association with fascin staining in tumor cells in the initial biopsy ($P = .142$) or surgical specimen ($P = .957$). Similarly, no association was observed between fascin staining and myofibroblasts in the initial biopsy ($P =$

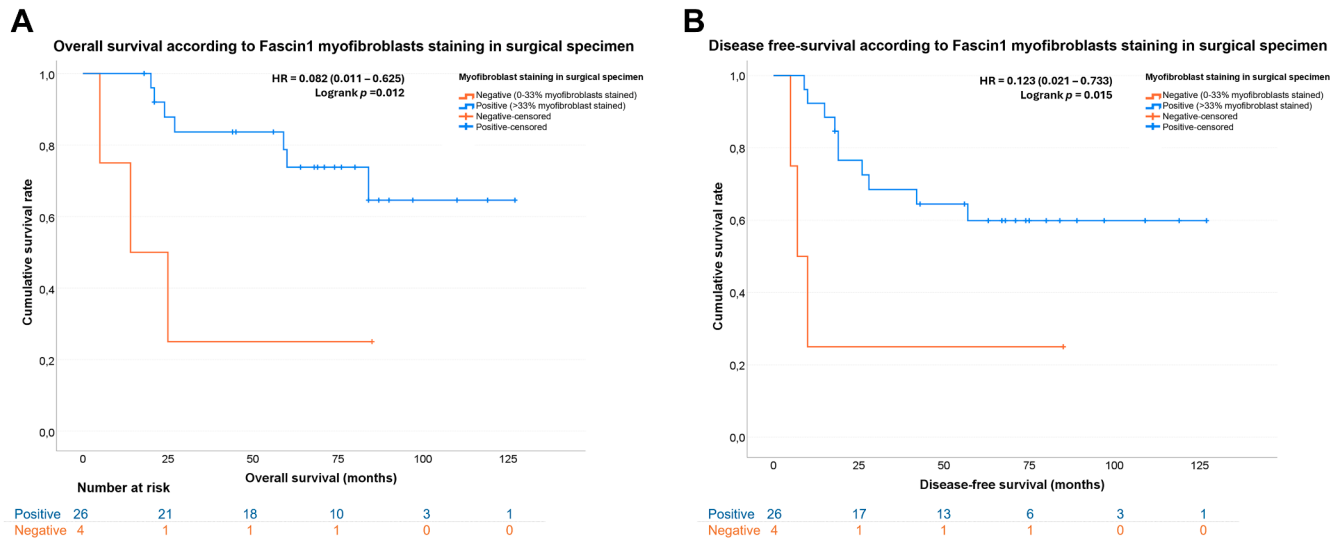
.511). However, Figure 2A illustrates the association between fascin expression in myofibroblasts and OS. Despite the modest sample size of this subgroup ($n = 30$), the results were statistically significant ($P = .012$; log-rank test), with improved OS in patients who received neoadjuvant therapy, suggesting a potential prognostic role for fascin expression in this context. Importantly, this association remained significant after adjustment in the multivariate analysis with ypT and ypN, as fascin staining in myofibroblasts in the surgical specimen maintained statistical significance (HR, 0.082; 95% CI, 0.011-0.625; $P = .016$; Cox regression; Table 4).

As previously noted, other parameters associated with OS in this patient cohort included ypT ($P < .001$; log-rank test) and ypN ($P < .001$; log-rank test), whereas the medullary-like histological subtype did not show a significant association with OS ($P = .418$; log-rank test), although, as previously stated, it was associated with fascin staining in myofibroblasts from the initial biopsy.

Analysis of disease-free survival (DFS) did not reveal additional findings beyond those observed for OS. Fascin staining in myofibroblasts from surgical specimens of patients who received neoadjuvant chemotherapy was significantly associated with improved DFS ($P = .015$; log-rank test; Fig. 2B). Consistently, ypT ($P < .001$; log-rank test) and ypN ($P < .001$; log-rank test) were also linked to DFS. Importantly, fascin staining in myofibroblasts retained its prognostic significance after multivariate adjustment for ypT and ypN (HR, 0.123; 95% CI, 0.021-0.733; $P = .021$; Cox regression; Table 5).

Effect of Imipramine on Triple-Negative Breast Cancer and Luminal Cell Lines

Imipramine significantly affected the viability of both MDA-MB-231 and MCF7 cells after 72 hours of treatment. The IC_{50} was determined to be $21.01 \pm 1.2 \mu M$ for MDA-MB-231 and $16.35 \pm 2.6 \mu M$ for MCF7. To further investigate the potential impact of

**Figure 2.**

Kaplan-Meier survival curves for patients with infiltrating tumors in the surgical specimens who received neoadjuvant chemotherapy ($n = 30$), stratified by fascin expression levels in cancer-associated fibroblasts. (A) Overall survival in patients treated with previous neoadjuvant chemotherapy. (B) Disease-free survival in patients treated with previous neoadjuvant chemotherapy. HR, hazard ratio.

imipramine on tumor progression, cell migration assays were performed using imipramine at various concentrations, including doses above and below the IC_{50} for each cell line. As shown in Figure 3A, significant effects on cell migration were observed at 20 μ M in MDA-MB-231 cells at both 8 and 24 hours ($P = .0157$ and $P < .01$, respectively) and 10 μ M in MCF7 cells ($P < .01$ and $P = .01$, respectively) (Fig. 3B).

FSCN1 mRNA levels in MDA-MB-231 cells showed a significant decrease between the control and treatment with 20 μ M imipramine after 72 hours ($\log_2$ fold change [LFC], -1.46 ; $P < .01$) (Fig. 4A). However, no significant changes were observed at 24 hours and 48 hours after treatment. As shown in Figure 4B, *FSCN1* expression also decreases in MCF7 cells following 72 hours of treatment with 15 μ M imipramine (LFC, -0.5 ; $P < .01$), although the magnitude of this reduction was smaller than that observed in MDA-MB-231 cells. This may reflect a lower sensitivity to imipramine in the MCF7 cells, which are less invasive. These results suggest that imipramine exerts a differential effect depending on the cell line type, treatment duration, and invasive phenotype.

Discussion

There is a constant need to explore new treatment options for TNBC due to its clinical and prognostic characteristics. Fascin expression is virtually absent in normal epithelial cells⁴¹ and is associated with invasion and poor prognosis in various

neoplasms.^{14,34,42} Thus, fascin is a promising therapeutic target in many cancers. Previous studies, including different subtypes of breast cancer, have demonstrated higher expression of fascin in TNBC.⁶

The significance of this study lies in its exclusive focus on the TNBC subgroup and its investigation of fascin as both a prognostic marker and a potential therapeutic target. To date, it represents the largest TNBC series analyzing the role of fascin in tumor cells and myofibroblasts within the TME.^{6,33,43-45} Notably, no previous studies have reported results on fascin staining in myofibroblasts within the TME of TNBC.

Our study demonstrates that fascin-positivity staining in tumor cells from the initial biopsy correlates closely with the positivity of staining in the surgical specimen in patients who have not received treatment before surgery. A review of the available literature indicates that previous studies have evaluated fascin expression in tumor cells, either in surgical specimens^{6,17,45} or in unspecified samples. However, no previous research has directly compared fascin expression between these 2 biopsy types.

Our findings suggest that, in patients not subjected to pre-operative treatment, fascin assessment can be reliably performed on either the initial biopsy or the surgical specimen. This flexibility could enhance sample availability for future research and clinical decision making. However, in patients who have received neoadjuvant chemotherapy, no correlation was observed between fascin positivity in tumor cells or myofibroblasts from the 2 biopsy types. Therefore, fascin determination in such cases should be conducted using a specific sample type aligned with the variables of interest of the study.

Fascin Expression in Tumor Cells

Regarding fascin staining in tumor cells, our findings align with those of previous studies, showing a statistically significant association with high histological grade^{33,43,45,46} and elevated Ki67 values ($>30\%$ in our study).⁴⁵ Additionally, we observed an association with HER2 score of 0 by immunohistochemistry, aligning with findings by Wang et al¹⁶ on the role of fascin and its

Table 4

Multivariate Cox regression analysis for overall survival in patients treated with previous neoadjuvant chemotherapy

Variable	No.	Missing	Significance for OS
Fascin in myofibroblasts (surgical specimen)	27	3	HR = 0.082; 95% CI, 0.011-0.625; $P = .016$
ypT			$P = .601$
ypN			HR = 3.194; 95% CI, 1.310-7.786; $P = .011$

HR, hazard ratio; OS, overall survival.

Table 5

Multivariate Cox regression analysis for surgical disease-free survival in patients treated with previous neoadjuvant chemotherapy

Variable	No.	Missing	Significance for DFS
Fascin in	27	3	HR = 0.122; 95% CI, 0.021–0.728; $P = .021$
myofibroblasts (surgical specimen)			$P = .314$
ypT			HR = 2.801; 95% CI, 1.312–5.980; $P = .008$
ypN			

DFS, disease-free survival; HR, hazard ratio.

relevance in the diagnosis of TNBC. We observed a novel association with medullary-like carcinoma and a statistically significant inverse association with the extracapsular extension of lymph node metastasis, which may be linked to phenomena related to tumor cell migration, as described by Yamamoto.⁴⁷

Our findings on fascin expression in tumor cells, particularly its relationship with tumor size and survival outcomes, differ from previous reports.^{33,43,45,48} Earlier survival studies collectively analyzed luminal breast cancer and TNBC, which may have impacted their conclusions due to the strong association between fascin expression and TNBC.⁴⁶

Our results revealed a negative association between tumor fascin expression and the presence of lymph node metastasis. This finding contrasts with some studies, suggesting a direct link

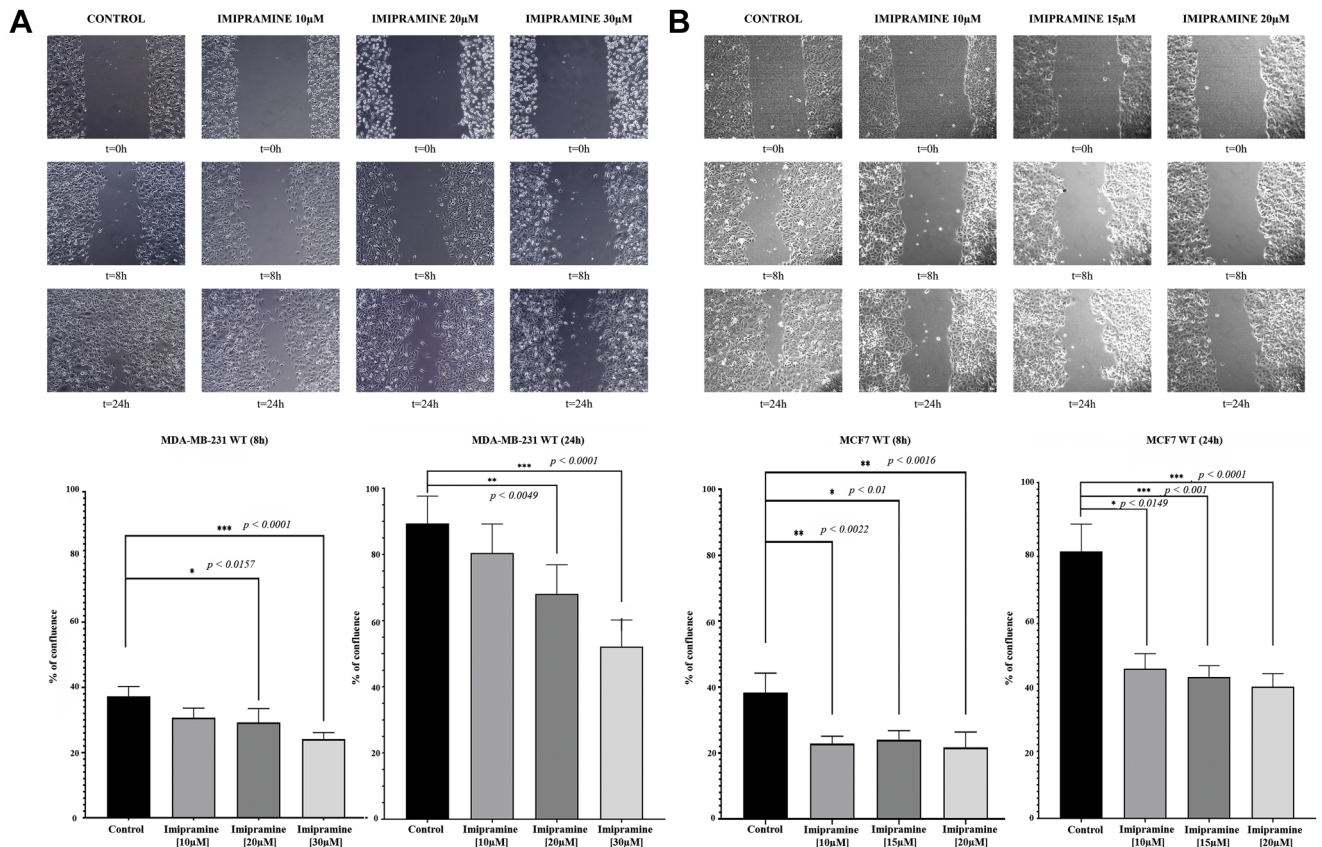
between fascin expression and metastasis development.^{33,43} However, it aligns with other reports proposing an inverse relationship, indicating that fascin expression may be associated with reduced metastatic potential in certain contexts.^{41,49} These conflicting findings underscore the complexity of the role of fascin in tumor progression and suggest that its impact on metastasis may be influenced by additional factors, such as tumor subtype or microenvironment.

Fascin Expression in Myofibroblasts

Cancer-associated fibroblasts, including myofibroblasts, form filopodia that promote tumor migration and invasion. Fascin enhances these processes by increasing the length and number of filopodia, thereby facilitating tumor migration and invasion.⁵⁰ Stromal factors within the TME, particularly those derived from cancer-associated fibroblasts, regulate fascin expression in tumor cells.⁵¹

The predictive value of fascin staining in myofibroblasts was evaluated for histologic complete response to chemotherapy, and factors, such as T and N categories at diagnosis and BCL-2, p53, and Ki67, were evaluated independently. Among these, fascin staining emerged as the only significant factor, suggesting that it acts as an independent predictive marker rather than a confounding variable for histologic response to treatment in our cohort.

In patients treated with neoadjuvant chemotherapy, fascin staining in myofibroblasts (specifically in those with residual tumor in the surgical specimen) was associated with improved

**Figure 3.**

Effect of imipramine on cell migration assays in breast cancer cell lines. (A) MDA-MB-231 cell migration after treatment with different concentrations of imipramine for 8 and 24 hours. (B) MCF7 cell migration after treatment with different concentrations of imipramine for 8 and 24 hours.

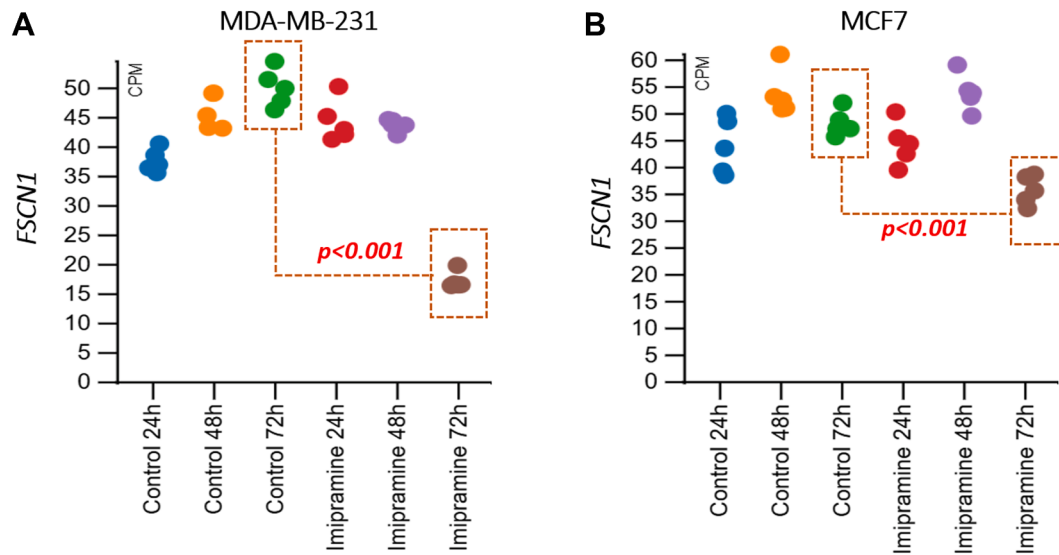


Figure 4.

Differential *FSCN1* expression in MDA-MB-231 and MCF7 cell lines after imipramine treatment. (A) *FSCN1* mRNA expression changes in MDA-MB-231 cells after treatment with 20 μ M imipramine. (B) *FSCN1* mRNA expression changes in MCF7 cells after treatment with 15 μ M imipramine. CPM, counts per million.

survival outcomes. Fascin staining remained statistically significant in multivariate analysis ($P = .021$) when evaluated alongside the ypT and ypN categories. However, these findings were based on a limited sample size ($n = 30$) due to the specificity of the subgroup studied, underscoring the need for larger prospective studies to validate these observations.

In normal breast tissue, myofibroblasts do not normally express fascin.⁵² Little information is available on fascin expression in myofibroblasts in the microenvironment of luminal breast cancer as well as in other epithelial neoplasms, and the role of this molecule in myofibroblasts has not been elucidated. The expression of other predictive markers in myofibroblasts, such as PDL1,⁵³ PN1,⁵⁴ and DEC2,⁵⁵ and in TNBC, AKAP12 has been studied.⁵⁶ Our results suggest that the fascin expression could be a useful marker to describe the behavior of the TME and may be a relevant predictive and prognostic marker for patients with TNBC.

Fascin expression in myofibroblasts within the TME of TNBC could be an important predictor of response to chemotherapy in the surgical setting as well as a prognostic factor for OS and DFS. However, further targeted studies are needed to better understand its expression in TNBC and its potential role in luminal breast cancer.

In Vitro Experiments With Imipramine

We investigated the effects of imipramine on cell viability, migration, and *FSCN1* expression in breast cancer to elucidate its potential as a therapeutic agent targeting *FSCN1*.

Regarding cell viability, Timilsina et al.⁵⁷ previously reported an IC_{50} value of 40 μ M for MDA-MB-231 and MCF7 cells, whereas our study determined slightly lower IC_{50} values for both cell lines. Our in vitro findings demonstrated significant effects of imipramine on *FSCN1* expression, with notable differences between the 2 cell lines. Imipramine treatment markedly reduced *FSCN1* expression in MDA-MB-231 cells, whereas MCF7 cells showed a more moderate decrease.

RNA-Seq data from the Gene Expression Omnibus data set (GSE190814) in the aforementioned study⁵⁷ highlighted differences in basal *FSCN1* expression levels and responses to

imipramine between the cell lines. Specifically, basal *FSCN1* expression, without treatment, was higher in the TNBC line compared with the luminal line (LFC, 2.18).

Cell migration experiments, in both studies, demonstrated the effectiveness of imipramine in significantly reducing the migratory capacity of MDA-MB-231 cells. Our findings further expand this observation by showing that imipramine also inhibits migration in MCF7 cells at a concentration of 10 μ M ($P < .05$), underscoring its broader antimigratory potential across diverse breast cancer phenotypes.

Both studies demonstrate similar trends in the effects of imipramine, with slight differences likely attributable to variations in experimental design. The study referenced in this section utilized a higher imipramine concentration over a 96-hour treatment period for RNA-Seq, whereas ours was conducted at several time points (24, 48, and 72 hours) using a lower concentration of 20 μ M. These differences in drug concentration and treatment duration may account for the minor variations observed between the findings. By incorporating shorter time points, our analysis captured the temporal dynamics of *FSCN1* expression changes, emphasizing potential time-dependent effects of imipramine treatment.

Remarkably, the higher basal levels of *FSCN1* in TNBC cells compared with luminal cells likely reflect their distinct phenotypic and biological characteristics. TNBC cells, being highly invasive and mesenchymal, rely on *FSCN1* for motility and invasion, whereas luminal cells, with their epithelial phenotype and lower invasiveness, exhibit reduced *FSCN1* expression.

These findings suggest that the aggressive nature of TNBC may be partially driven by *FSCN1*, highlighting its potential as a therapeutic target for this subtype. Furthermore, the therapeutic potential of imipramine in targeting *FSCN1* expression and its downstream effects on migration is reinforced, with cell line-dependent variations offering valuable insights for future personalized therapeutic strategies.

Clinical Trial

Our group is undertaking a clinical trial known as histological and clinical effects of imipramine in the treatment of patients

with cancer overexpressing fascin1 (HITCLIF).²¹ This trial aims to evaluate the potential of imipramine as an antiinvasive treatment, representing the first experimental study to select participants based on fascin expression. This phase 2 trial, which is multicenter, double blind, placebo controlled, randomized, and noncommercial, is designed to assess the effectiveness of imipramine in treating localized cancers of the colon, rectum, and breast, including patients with TNBC with high fascin expression.

In conclusion, this study highlights the potential of fascin as both a biomarker and therapeutic target in TNBC. Our findings reveal that high fascin expression, in both tumor cells and peritumoral myofibroblasts, is associated with distinct molecular and histological characteristics, predictive of better chemotherapeutic response, and improved survival outcomes in specific patient subgroups. Imipramine further supports this potential by effectively reducing *FSCN1* expression and inhibiting cell migration in vitro, with particularly strong effects in invasive TNBC cells. Patients with TNBC exhibiting elevated fascin expression, especially within the TME, represent a subgroup that could benefit most from fascin-targeted therapies. These results reinforce the importance of fascin as a dual marker and therapeutic target, paving the way for more personalized and effective treatment strategies for TNBC.

Limitations

Despite the robustness of this study, several limitations must be acknowledged. Although it represents the largest TNBC cohort evaluated for fascin expression, subgroup analyses are constrained by small sample sizes, particularly in patients receiving neoadjuvant chemotherapy. In this subgroup, some patients achieved a complete pathological response, which precluded fascin evaluation in the surgical specimens. Although this further reduces the robustness of the statistical analysis, the observed associations remain significant and warrant validation in larger cohorts. The molecular and histological heterogeneity of TNBC also complicates the generalization of findings across all subtypes.

It is important to note that, although our findings suggest a potential role for fascin as a predictive biomarker for antifascination therapies in TNBC, the current analyses were conducted using a research-grade antibody. According to the current European Union In Vitro Diagnostic Medical Device Regulations, the implementation of fascin immunohistochemistry as a companion diagnostic would require the use of a CE-certified (European regulatory approval) assay or a validated laboratory-developed test approved by national regulatory agencies. Therefore, further validation using a CE-certified antifascin antibody would be necessary before any potential clinical application.

Although imipramine showed promising results in vitro, the translation of these findings to clinical outcomes requires further investigation through prospective trials, such as HITCLIF. Moreover, despite employing RNA-Seq, this study exclusively focused on *FSCN1*, without exploring other potential molecular pathways. Future research should address these gaps to enhance our understanding of the role and therapeutic potential of fascin in TNBC.

Acknowledgments

The authors thank the Genomics Core at the Biomedical Research Institute of Murcia (IMIB Pascual Parrilla) for sequencing support.

Author Contributions

D.P., P.C., G.L. and A.M.H. performed the study concept, design, and methodology. D.P. and R.C. collected data. A.F.C. constructed the TMA. D.P., A.S. and J.A. interpreted histopathologic slides and/or molecular findings. F.P. and G.L. performed in vitro experiments and RNA-sequence analysis. D.P., M.L., G.L., P.C. and A.M.H. wrote the first version of the paper. All authors revised and reviewed the paper for critical analysis. All authors read and approved the final version.

Data Availability

The data sets generated during the current study have been submitted to ArrayExpress under accession number E-MTAB-15351. Additional relevant data can be found in the Supplementary Material section.

Funding

This study has been funded by Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) through the project “ICI20/00044” and by the Fundación Universitaria San Antonio de Murcia through the project MEFASCINAS. The author A.M.H is supported through the Ramón y Cajal program (grant RYC2022-037702-I), supported by the Ministerio de Ciencia e Innovación and funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033 and by the European Social Fund Plus (ESF+).

Declaration of Competing Interest

The authors declare no conflict of interest.

Ethics Approval and Consent to Participate

This study was conducted in accordance with Spanish legislation (Royal Decree 1386/2018, of November 19) and was approved by the ethics committee of the Hospital General Universitario Santa Lucía and the ethics committee of the Universidad Católica San Antonio de Murcia. No consent was required for patient participation.

Declaration of Generative AI and AI-Assisted Technologies in the Writing Process

After completing the full draft of the manuscript, the author A.M.H. used ChatGPT (OpenAI) in selected sections (Introduction and Discussion) to enhance clarity and improve readability. The content was subsequently reviewed and edited by the author, who takes full responsibility for the final version of the publication.

Supplementary Material

The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1016/j.labinv.2025.104268>.

References

1. Lin LH, Tran I, Yang Y, et al. DNA methylation identifies epigenetic subtypes of triple-negative breast cancers with distinct clinicopathologic and molecular features. *Mod Pathol*. 2023;36(11):100306. <https://doi.org/10.1016/j.modpat.2023.100306>
2. Weisman PS, Ng CKY, Brogi E, et al. Genetic alterations of triple negative breast cancer by targeted next-generation sequencing and correlation with

- tumor morphology. *Mod Pathol*. 29(5):476–488. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2016.39>.
3. McCarthy AM, Friebel-Klingner T, Ehsan S, et al. Relationship of established risk factors with breast cancer subtypes. *Cancer Med*. 10(18):6456–6467. <https://doi.org/10.1002/cam4.4158>.
 4. Grasset EM, Dunworth M, Sharma G, et al. Triple-negative breast cancer metastasis involves complex epithelial-mesenchymal transition dynamics and requires vimentin. *Sci Transl Med*. 2022;14(656):eabn7571. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abn7571>
 5. O'Reilly D, Al Sendi M, Kelly CM. Overview of recent advances in metastatic triple negative breast cancer. *World J Clin Oncol*. 2021;12(3):164–182. <https://doi.org/10.5306/wjco.v12.i3.164>
 6. Wang CQ, Tang CH, Chang HT, et al. Fascin-1 as a novel diagnostic marker of triple-negative breast cancer. *Cancer Med*. 2016;5(8):1983–1988. <https://doi.org/10.1002/cam4.746>
 7. Tan VY, Lewis SJ, Adams JC, Martin RM. Association of fascin-1 with mortality, disease progression and metastasis in carcinomas: a systematic review and meta-analysis. *BMC Med*. 2013;11:52. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-52>
 8. Rodrigues PC, Sawazaki-Calone I, de Oliveira CE, et al. Fascin promotes migration and invasion and is a prognostic marker for oral squamous cell carcinoma. *Oncotarget*. 2017;8(43):74736–74754. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20360>
 9. Zhao Z, Wang Y, Zhang JJ, Huang X-Y. Fascin inhibitors decrease cell migration and adhesion while increase overall survival of mice bearing bladder cancers. *Cancers (Basel)*. 2021;13(11):2698. <https://doi.org/10.3390/cancers13112698>
 10. Hashimoto Y, Shimada Y, Kawamura J, Yamasaki S, Imamura M. The prognostic relevance of fascin expression in human gastric carcinoma. *Oncology*. 2004;67(3–4):262–270. <https://doi.org/10.1159/000081327>
 11. Cao HH, Zheng CP, Wang SH, et al. A molecular prognostic model predicts esophageal squamous cell carcinoma prognosis. *PLoS One*. 2014;9(8):e106007. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106007>
 12. Yamaguchi H, Inoue T, Eguchi T, et al. Fascin overexpression in intraductal papillary mucinous neoplasms (adenomas, borderline neoplasms, and carcinomas) of the pancreas, correlated with increased histological grade. *Mod Pathol*. 2007;20(5):552–561. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3800763>
 13. Wang CQ, Li Y, Huang B-F, et al. EGFR conjunct FSCN1 as a novel therapeutic strategy in triple-negative breast cancer. *Sci Rep*. 2017;7(1):15654. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15939-9>
 14. Lamb MC, Tootle TL. Fascin in cell migration: more than an actin bundling protein. *Biology (Basel)*. 2020;9(11):403. <https://doi.org/10.3390/biology9110403>
 15. Wang Y, Song M, Liu M, et al. Fascin inhibitor increases intratumoral dendritic cell activation and anti-cancer immunity. *Cell Rep*. 2021;35(1):108948. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.108948>
 16. Dart A. Presenting fibroblasts. *Nat Rev Cancer*. 2021;22(4):193. <https://doi.org/10.1038/s41568-022-00457-2>
 17. Wang HJ, Jiang Y-P, Zhang J-Y, Tang X-Q, Lou J-H, Huang X-Y. Roles of fascin in dendritic cells. *Cancers (Basel)*. 2023;15(14):3691. <https://doi.org/10.3390/cancers15143691>
 18. Montoro-García S, Alburquerque-González B, Bernabé-García Á, et al. Novel anti-invasive properties of a Fascin1 inhibitor on colorectal cancer cells. *J Mol Med*. 2020;98(3):383–394. <https://doi.org/10.1007/s00109-020-01877-z>
 19. Alburquerque-González B, Bernabé-García M, Montoro-García S, et al. New role of the antidepressant imipramine as a Fascin1 inhibitor in colorectal cancer cells. *Exp Mol Med*. 2020;52(2):281–292. <https://doi.org/10.1038/s12276-020-0389-x>
 20. Alburquerque-gonzález B, Bernabé-García Á, Bernabé-García M, et al. The FDA-approved antiviral raltegravir inhibits fascin1-dependent invasion of colorectal tumor cells in vitro and in vivo. *Cancers (Basel)*. 2021;13(4):861. <https://doi.org/10.3390/cancers13040861>
 21. Asensi-Cantó A, Rodríguez-Braun E, Beltrán-Videla A, Hurtado AM, Conesa-Zamora P. Effects of imipramine on cancer patients over-expressing Fascin1; description of the HITCLIF clinical trial. *Front Oncol*. 2023;13:1238464. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1238464>
 22. Wang CH, Huang C-W, Nguyen NTH, et al. Real-world data on the associations of tricyclic antidepressants and selective serotonin reuptake inhibitors with gynecologic cancer risk. *Cancers (Basel)*. 2025;17(10):1616. <https://doi.org/10.3390/cancers17101616>
 23. Amin MB, Greene FL, Edge SB, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: continuing to build a bridge from a population-based to a more 'personalized' approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(2):93–99. <https://doi.org/10.3322/caac.21388>
 24. Nagini S. Breast cancer: current molecular therapeutic targets and new players. *Anticancer Agents Med Chem*. 2017;17(2):152–163. <https://doi.org/10.2174/1871520616666160502122724>
 25. T-DXd: new standard for HER2-low breast cancer. *Cancer Discov*. 2022;12(8):1828. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-NB2022-0043>
 26. Hashmi AA, Hashmi KA, Irfan M, et al. Ki67 index in intrinsic breast cancer subtypes and its association with prognostic parameters. *BMC Res Notes*. 2019;12(1):605. <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4653-x>
 27. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991;19(5):403–410. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.1991.tb00229.x>
 28. Widodo I, Dwianingsih EK, Triningsih E, Utoro T. Soeripto. Clinicopathological features of Indonesian breast cancers with different molecular subtypes. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(15):6109–6113. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.15.6109>
 29. Duffy MJ, Synnott, NC, Crown J. Mutant p53 in breast cancer: potential as a therapeutic target and biomarker. *Breast Cancer Res Treat*. 170(2):213–219. <https://doi.org/10.1007/s10549-018-4753-7>
 30. Ogston KN, Miller ID, Payne S, et al. A new histological grading system to assess response of breast cancers to primary chemotherapy: prognostic significance and survival. *Breast*. 12(5):320–327. [https://doi.org/10.1016/s0960-9776\(03\)00106-1](https://doi.org/10.1016/s0960-9776(03)00106-1)
 31. Conesa-Zamora P, García-Solano J, García-García F, et al. Expression profiling shows differential molecular pathways and provides potential new diagnostic biomarkers for colorectal serrated adenocarcinoma. *Int J Cancer*. 2013;132(2):297–307. <https://doi.org/10.1002/ijc.27674>
 32. García-Solano J, García-Solano ME, Torres-Moreno D, et al. Biomarkers for the identification of precursor polyps of colorectal serrated adenocarcinomas. *Cellr Oncol*. 2016;39(3):243–252. <https://doi.org/10.1007/s13402-016-0269-5>
 33. Abbasi A, Noroozina F, Anvar S, Abbasi M, Hosseinzadeh S, Mokhtari S. Fascin overexpression is associated with higher grades of breast cancer. *Pol J Pathol*. 2019;70(4):264–268. <https://doi.org/10.5114/pjp.2019.93128>
 34. Gomaa W, Al-Maghrabi H, Al-Attas M, Al-Ghamdi F, Al-Maghrabi J. Fascin expression in urinary bladder urothelial carcinoma correlates with unfavourable prognosis. *Int J Clin Exp Pathol*. 2019;12(10):3901–3907. PMID: 31933780.
 35. Yamada Y, Kurata A, Fujita K, Kuroda M. Fascin as a useful marker for cancer-associated fibroblasts in invasive lung adenocarcinoma. *Medicine*. 100(35):e27162. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000027162>
 36. Magaki S, Hojat SA, Wei B, So A, Yong WH. An Introduction to the Performance of Immunohistochemistry. *Methods Mol Biol*. 2019;1897:289–298. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_25
 37. Buchwalow I, Samoilova V, Boecker W, Tiemann M. Non-specific binding of antibodies in immunohistochemistry: fallacies and facts. *Sci Rep*. 2011;1:28. <https://doi.org/10.1038/srep00028>
 38. Bray NL, Pimentel H, Melsted P, Pachter L. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nat Biotechnol*. 2016;34(5):525–527. <https://doi.org/10.1038/nbt.3519>
 39. Powell DR. D. I. R. analysis. *Degust: interactive RNA-seq analysis*. 2015. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.3501067>
 40. Menyhart O, Weltz B, Györfy B. MultipleTesting.com: a tool for life science researchers for multiple hypothesis testing correction. *PLoS One*. 2021;16(6):e0245824. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245824>
 41. Sarantelli E, Mourkakias A, Zacharia LC, Stylianou A, Gkretsi V. Fascin-1 in cancer cell metastasis: old target-new insights. *Int J Mol Sci*. 2023;24(14):11253. <https://doi.org/10.3390/ijms241411253>
 42. Lin S, Taylor MD, Singh PK, Yang S. How does fascin promote cancer metastasis? *FEBS J*. 2021;288(5):1434–1446. <https://doi.org/10.1111/febs.15484>
 43. Lee HJ, An HJ, Kim TH, et al. Fascin expression is inversely correlated with breast cancer metastasis suppressor 1 and predicts a worse survival outcome in node-negative breast cancer patients. *J Cancer*. 2017;8(16):3122–3129. <https://doi.org/10.7150/jca.22046>
 44. Oladeru O, Rajack F, Esnakula A, Naab TJ, Yasmine Kanaan Y, Ricks-Santi L. Beyond triple-negative: high prevalence of quadruple-negative breast cancer in African Americans. *Biomedicines*. 2024;12(7):1522. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12071522>
 45. Tampaki EC, Tampakis A, Nonni A, et al. Combined fascin-1 and MAP17 expression in breast cancer identifies patients with high risk for disease recurrence. *Mol Diagn Ther*. 2019;23(5):635–644. <https://doi.org/10.1007/s40291-019-00411-3>
 46. Esnakula AK, Ricks-Santi L, Kwagyan J, et al. Strong association of fascin expression with triple negative breast cancer and basal-like phenotype in African-American women. *J Clin Pathol*. 67(2):153–160. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2013-201698>
 47. Yamamoto Y, Hayashi Y, Sakaki H, Murakami I. Downregulation of fascin induces collective cell migration in triple-negative breast cancer. *Oncol Rep*. 2023;50(2):150. <https://doi.org/10.3892/or.2023.8587>
 48. Chang JTC, Chen Y-J, Lu Y-C, et al. Fascin is a circulating tumor marker for head and neck cancer as determined by a proteomic analysis of interstitial fluid from the tumor microenvironment. *Clin Chem Lab Med*. 53(10):1631–1641. <https://doi.org/10.1515/ccclm-2014-1016>
 49. Izdebska M, Zielińska W, Krajewski A, Grzanka A. Fascin in migration and metastasis of breast cancer cells—a review. *Adv Med Sci*. 2023;68(2):290–297. <https://doi.org/10.1016/j.advms.2023.08.003>
 50. Rogers S, Zhang C, Anagnostidis V, et al. Cancer-associated fibroblasts influence Wnt/PCP signaling in gastric cancer cells by cytoneme-based

- dissemination of ROR2. *Proc Natl Acad Sci USA*. 120(39):e2217612120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2217612120>.
51. Zhang X, Cho IH, Park JH, Lee MK, Hwang YS. Fascin is involved in cancer cell invasion and is regulated by stromal factors. *Oncol Rep*. 2019;41(1): 465–474. <https://doi.org/10.3892/or.2018.6847>
52. Uhlén M, Fagerberg L, Hallström BJ, et al. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science*. 347(6220):1260419. <https://doi.org/10.1126/science.1260419>.
53. Miyamoto T, Haruki T, Makishima K, et al. The prognostic implications of podoplanin in cancer-associated fibroblasts and PD-L1 expression in high-grade neuroendocrine carcinoma of the lung. *Thorac Cancer*. 2024;15(36): 2519–2529. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.15477>
54. Chen Y, Zhu S, Yang L, Lu Y, Ye X. Cancer-associated fibroblasts (CAFs) regulate lung cancer malignant progression by transferring SERPINE2 (PN1) via exosomes. *Curr Mol Med*. 2024;25(8):1025–1037. <https://doi.org/10.2174/0115665240289093240109062852>
55. Zhang W-L, Fan H-Y, Chen B-J, et al. Cancer-associated fibroblasts-derived CXCL1 activates DEC2-mediated dormancy in oral squamous cell carcinoma. *Heliyon*. 2024;10:e39133. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e39133>
56. Liu Z, Hu S, Zhao X, et al. AKAP12 positive fibroblast determines immunosuppressive contexture and immunotherapy response in patients with TNBC by promoting macrophage M2 polarization. *J Immunother Cancer*. 2024;12: e009877. <https://doi.org/10.1136/jitc-2024-009877>
57. Timilsina S, Rajamanickam S, Rao A, et al. The antidepressant imipramine inhibits breast cancer growth by targeting estrogen receptor signaling and DNA repair events. *Cancer Lett*. 2022;540:215717. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2022.215717>



DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

D^a Laly Gómez Sannicolás, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Sta. M^a del Rosell, Áreas II y VIII de Salud del Servicio Murciano de Salud

CERTIFICA QUE,

1º El CEI este CEI en reunión celebrada el 20/12/22 ha evaluado la propuesta del Promotor/investigador referida al estudio:

Tipo de estudio: **Observacional**

Cod. Protocolo	Nº EudraCT
TRIPLEFAS	No procede
Estudio de cohortes retrospectivo para la expresión de fascina en cáncer de mama triple negativo y su comportamiento biológico.	
Protocolo	Vs 22/12/22
HIP	--
Promotor:	--

Evaluando los aspectos del estudio requeridos por la legislación vigente:

- La realización del estudio en el Área II/VIII de salud es pertinente.
- El estudio cumple con los requisitos reglamentarios correspondientes al tipo de estudio.
- El diseño del estudio es adecuado para obtener las conclusiones objetivo del mismo.
- Los criterios de selección y retirada de los sujetos están indicados y son adecuados.
- Requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación a los objetivos del estudio y justificación de los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- La capacidad de los investigadores y los medios disponibles apropiados para llevar a cabo el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiera con el respeto a los postulados éticos.

En base a lo expuesto este comité emite el siguiente dictamen:

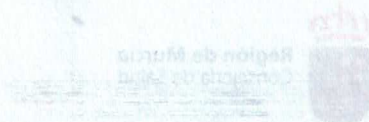
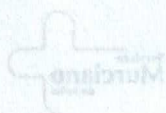
INFORME FAVORABLE

Investigador y Centros:

D. David Pérez Parra, Residente 2º Anatomía Patológica del HGUSL

Lo que firmo en Cartagena, 22 de diciembre de 2022.

Fdo.: D^a Laly Gómez Sannicolás



1º Tras revisar y evaluar sujetos a las medidas de prevención ante la Covid-19, se decidió emitir el informe correspondiente al proyecto de Investigación anteriormente referido.

2º El CEI de las Áreas II y VIII tanto en su composición, como en los PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95)

4º La composición actual del CEIC que ha evaluado la propuesta fue la siguiente:

Presidente:	D. A. Javier Trujillo Santos	Médico Adjunto Medicina Interna/Infecciosa.
Secretaria:	Dª Laly Gómez Sannicolás,	Secretaria Unidad Investigación.
Vocales:	D. José M. Bueno Ortiz,	Médico Adjunto Centro de Salud de Fuente Álamo.
	D. Francisco Sánchez Rodríguez	Responsable Farmacia, adscrito a la GAP Área II.
	D. Blas García Rojo	Médico Adjunto Servicio Anestesiología y Reanimación.
	D. Federico Soria Arcos	Médico Adjunto Servicio Cardiología.
	Dª Mª Teresa Roldan Chicano	Enfermera Diplomada.
	Dª Ruth L. Manrique Medina	Médico Adjunto Gerencia A. Primaria. Técnico de Salud
	D. Carlos F. Fernández Ferrer	Licenciado en Derecho
	D. Luis Escondrillas Gómez	Responsable Farmacia del HGUSL
	D. Manuel Jesús Cuenca Burgos	Médico adjunto Sº Pediatría, Vocal C. Bioética, Hospital
	D. Carlos F. Fernández Ferrez	HULAMM.
		Ldo. en Derecho.

*** En el caso de que se evaluara algún proyecto del que un miembro sea investigador/colaborador, éste se ausentará de la reunión durante la discusión del proyecto.**

INFORME FAVORABLE

Investigador y Centros:
D. David Pérez Pérez, Residente 2º Anatomía Patológica del HGUSL

Medicina en Carámbora, 22 de diciembre de 2022.

[Firma]
D. Laly Gómez Sannicolás

Dr. D. Antonio Piñero Madrona
Presidente del CEIm Hospital Virgen de la Arrixaca

CERTIFICA

Que el CEIm Hospital Virgen de la Arrixaca en su reunión del día 29/03/2022, acta 03/2022 ha evaluado la propuesta del investigador **Dr. Pablo Conesa Zamora** referida al estudio:

Título: Targeting NON-CANonical functions of FAScin as a therapeutic approach for Triple negative breast carcinoma

Código Promotor: NOCAFAST **Código Interno:** 2022-3-20-HCUVA

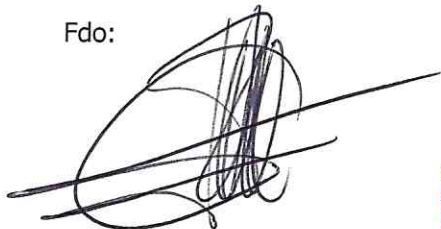
1º. Considera que

- El estudio se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

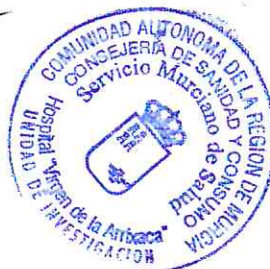
2º. Por lo que este CEIm emite un **DICTAMEN FAVORABLE.**

Lo que firmo en Murcia, a 29 de marzo de 2022

Fdo:



Dr. D. Antonio Piñero Madrona
Presidente del CEIm Hospital Virgen de la Arrixaca



DATOS DEL PROYECTO

Título:	“Papel de la fascia en el comportamiento biológico del cáncer de mama triple negativo: Estudio observacional en una cohorte retrospectiva y experimental con líneas celulares de mama”	
Investigador Principal	Nombre	Correo-e
Dr.	Pablo Conesa Zamora	pconesa@ucam.edu

INFORME DEL COMITÉ

Fecha	30/03/2023	Código	CE032310
--------------	-------------------	---------------	-----------------

Tipo de Experimentación

Investigación experimental clínica con seres humanos	
Investigación experimental no clínica con seres humanos	
Utilización de tejidos humanos procedentes de pacientes, personas sanas, tejidos embrionarios o fetales	X
Utilización de tejidos humanos, tejidos embrionarios o fetales procedentes de bancos de muestras o tejidos	X
Investigación observacional, psicológica o comportamental en humanos	X
Uso de datos personales, información genética, etc.	X
Experimentación animal	
Utilización de agentes biológicos de riesgo para la salud humana, animal o las plantas	
Uso de organismos modificados genéticamente (OMGs)	

Comentarios Respecto al Tipo de Experimentación

Nada Obsta

Comentarios Respecto a la Metodología de Experimentación

Nada Obsta



COMITÉ DE ÉTICA DE LA UCAM

Sugerencias al Investigador

A la vista de la solicitud de informe adjunto por el Investigador y de las recomendaciones anteriormente expuestas el dictamen del Comité es:

Emitir Informe Favorable	X
Emitir Informe Desfavorable	
Emitir Informe Favorable condicionado a Subsanación	

MOTIVACIÓN

Incrementará conocimientos en su área

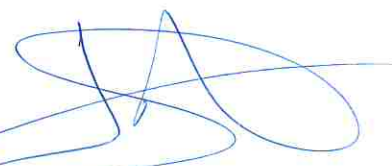
Vº Bº El Presidente,



Fdo.: José Alberto Cánovas Sánchez



El Secretario,



Fdo.: José Alarcón Teruel

